

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 606 302**

51 Int. Cl.:

C07K 16/22 (2006.01)

C07K 16/26 (2006.01)

C07K 16/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **30.03.2012 PCT/EP2012/055901**

87 Fecha y número de publicación internacional: **04.10.2012 WO12131078**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **30.03.2012 E 12711201 (9)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.09.2016 EP 2694546**

54 Título: **Moléculas de unión biespecíficas que se unen a VEGF y ANG2**

30 Prioridad:

01.04.2011 EP 11160921

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

23.03.2017

73 Titular/es:

**BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL
GMBH (100.0%)
Binger Strasse 173
55216 Ingelheim am Rhein, DE**

72 Inventor/es:

**GSCHWIND, ANDREAS;
OTT, RENE GEORG;
BOUCNEAU, JOACHIM;
BUYSE, MARIE-ANGE y
DEPLA, ERIK**

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

Observaciones :

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

ES 2 606 302 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

Moléculas de unión biespecíficas que se unen a VEGF y ANG2

Campo de la invención

La invención se refiere al campo de la terapia humana, en particular de la terapia de cánceres, y a agentes y composiciones útiles en dicha terapia.

Antecedentes de la invención

Cuando los tumores alcanzan un tamaño crítico de aproximadamente 1 mm³, se vuelven dependientes de la angiogénesis para mantener el suministro de sangre con oxígeno y nutrientes que permite el crecimiento adicional. Las terapias antiangiogénesis se han convertido en una opción de tratamiento importante para varios tipos de tumores. Estas terapias se han centrado en el bloqueo de la ruta de VEGF (Ferrara *et al.*, Nat Rev Drug Discov. Mayo de 2004; 3(5): 391-400) mediante la neutralización de VEGF (Avastin) o sus receptores (Sutent y Sorafinib). Los estudios recientes en ratones han mostrado que la Angiopoyetina 2 (Ang2), un ligando del receptor Tie2, controla la remodelación vascular permitiendo las funciones de otros factores angiogénicos tales como el VEGF. Ang2 se expresa principalmente por células endoteliales inducidas fuertemente por hipoxia y otros factores angiogénicos, y se ha demostrado que regula la plasticidad de los vasos tumorales, permitiendo que los vasos respondan a VEGF y FGF2 (Augustin *et al.*, Nat Rev Mol Cell Biol. Marzo de 2009; 10(3): 165-77). Como consecuencia de este papel, la delección o inhibición de Ang2 tiene como resultado una reducción de la angiogénesis (Gale *et al.*, Dev Cell. Septiembre de 2002; 3(3):302-4.) (Falcón *et al.*, Am J Pathol. Noviembre de 2009; 175(5): 2159-70). Se han notificado concentraciones elevadas de Ang2 en suero para pacientes con cáncer colorrectal, NSCLC y melanoma (Goede *et al.*, Br J Cancer. 26 de Octubre de 2010; 103(9): 1407-14), (Park *et al.*, Chest. Julio de 2007; 132(1): 200-6), (Helfrich *et al.*, Clin Cancer Res. 15 de Feb de 2009; 15(4): 1384-92). En el cáncer CRC, los niveles en suero de Ang2 se correlacionan con la respuesta terapéutica a la terapia anti-VEGF.

El sistema Ang-Tie consiste en 2 receptores (Tie1 y Tie2) y 3 ligandos (Ang1, Ang2 y Ang4) (Augustin *et al.*, Nat Rev Mol Cell Biol. Marzo de 2009; 10(3): 165-77). Tie2, Ang1 y Ang2 son los miembros mejor estudiados de esta familia, Tie 1 es un receptor huérfano y aún tiene que definirse el papel de Ang4 para la remodelación vascular. Ang2 y Ang1 median funciones opuestas sobre la unión y activación de Tie2. La activación de Tie2 mediada por Ang2 da como resultado la activación de células endoteliales, la disociación de pericitos, la fuga de vasos y la inducción de la ramificación de los vasos. A diferencia de lo que ocurre con Ang2, la señalización de Ang1 mantiene la integridad de los vasos por reclutamiento de pericitos, manteniendo de esta manera la quiescencia de las células endoteliales.

La angiopoyetina 2 (Ang2) es un ligando de 66 kDa secretado por la tirosina quinasa receptora Tie2 (Augustin *et al.*, Nat Rev Mol Cell Biol. Marzo de 2009; 10(3):165-77). Ang2 consiste en un dominio superenrollado N-terminal y un dominio similar al fibrinógeno C-terminal, este último es necesario para la interacción con Tie2. Ang2 se expresa principalmente por las células endoteliales y se induce fuertemente por hipoxia y otros factores angiogénicos, incluyendo VEGF. Tie2 se encuentra en las células endoteliales, células madre hematopoyéticas y células tumorales. Se ha demostrado que Ang2-Tie2 regulan la plasticidad de los vasos tumorales, permitiendo que los vasos respondan a VEGF y FGF2.

Se ha mostrado que Ang2 *in vitro* actúa como un mitógeno modesto, quimioatrayente e inductor de la formación de tubos en las células endoteliales de vena umbilical humana (HUVEC). Ang2 induce la fosforilación de tirosina de Tie2 expresado ectópicamente en fibroblastos y promueve acontecimientos de señalización aguas abajo, tales como la fosforilación de ERK-MAPK, AKT y FAK en HUVEC. Se ha descrito un papel antagonista de Ang2 en respuestas de células endoteliales inducidas por Ang1.

Se ha demostrado que la deficiencia de Ang2 da como resultado un profundo defecto de diseño linfático en ratones. Aunque la pérdida de Ang2 es prescindible para el desarrollo vascular embrionario, los ratones con deficiencias de Ang2 tienen defectos vasculares persistentes en la retina y riñón. Junto con el patrón dinámico de la expresión de Ang2 en sitios de angiogénesis (por ejemplo, ovario), estos descubrimientos indican que Ang2 controla la remodelación vascular al permitir las funciones de otros factores angiogénicos, tales como VEGF.

El sistema Ang2-Tie2 ejerce papeles cruciales durante el cambio angiogénico y etapas posteriores de angiogénesis tumoral. La expresión de Ang2 está fuertemente regulada de forma positiva en el endotelio asociado con tumor. Se ha observado crecimiento reducido de tumores cuando se implantan en ratones deficientes para Ang2, especialmente durante etapas tempranas de crecimiento tumoral. El bloqueo terapéutico de Ang2 con mAb de Ang2 ha mostrado amplia eficacia en una diversidad de modelos de xenotrasplante tumoral. Se han descrito efectos aditivos de mAb de Ang2 con inhibidores de VEGFR2 (mAb e inhibidores de peso molecular pequeño).

Como se ha descrito en, por ejemplo, los documentos US2008/0014196 y WO2008/101985 la angiogénesis está implicada en la patogénesis de varios trastornos, incluyendo tumores sólidos y metástasis así como enfermedades oculares. Uno de los factores proangiogénicos más importantes es el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), también denominado VEGF-A o factor de permeabilidad vascular (VPF). VEGF pertenece a una familia génica que incluye factor de crecimiento placentario (PIGF), VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E y VEGF-F. El

corte y empalme alternativo de ARNm de un gen sencillo de VEGF humano da como resultado al menos seis isoformas (VEGF121, VEGF145, VEGF165, VEGF183, VEGF189 y VEGF206), siendo VEGF165 la isoforma más abundante.

Se han identificado dos tirosina quinasas receptoras de VEGF (VEGFR) que interactúan con VEGF, es decir, VEGFR-1 (también conocido como Flt-1) y VEGFR-2 (también conocido como KDR o Flk-1). VEGFR-1 tiene la mayor afinidad por VEGF, mientras que VEGFR-2 tiene una afinidad algo menor por VEGF. Ferrara (Endocrine Rev. 2004, 25: 581-611) proporciona una descripción detallada de VEGF, la interacción con sus receptores y su función en procesos patológicos y normales pueden encontrarse en Hoebe et al. Pharmacol. Rev. 2004, 56: 549-580.

Se ha indicado que VEGF es un regulador clave de angiogénesis tanto normal como anómala (Ferrara y Davis-Smyth, Endocrine Rev. 1997, 18: 4-25; Ferrara J. Mol. Med. 1999, 77: 527-543). En comparación con otros factores de crecimiento que contribuyen a los procesos de formación vascular, VEGF es único en su alta especificidad por células endoteliales dentro del sistema vascular.

Se sobreexpresa ARNm de VEGF por la mayoría de los tumores humanos. En el caso de crecimiento tumoral, la angiogénesis parece ser crucial para la transición de hiperplasia a neoplasia, y para proporcionar alimento para el crecimiento y metástasis del tumor (Folkman et al., 1989, Nature 339-58), lo que permite a las células tumorales adquirir una ventaja de crecimiento en comparación con las células normales. Por lo tanto, las terapias anti-angiogénesis se han convertido en una opción de tratamiento importante para varios tipos de tumores. Estas terapias se han centrado en el bloqueo de la ruta de VEGF (Ferrara et al., Nat Rev Drug Discov. Mayo 2004; 3(5): 391-400).

VEGF también está implicado en enfermedades oculares. La concentración de VEGF en los fluidos oculares está altamente correlacionada con la presencia de proliferación activa de vasos sanguíneos en pacientes con retinopatías diabéticas y otras relacionadas con isquemia. Además, recientes estudios han demostrado la localización de VEGF en membranas neovasculares coroidales en pacientes afectados por degeneración macular relacionada con la edad (AMD). La regulación positiva de VEGF también se ha observado en diversos trastornos inflamatorios. VEGF se ha implicado en la patogénesis de artritis reumatoide, una enfermedad inflamatoria en la que la angiogénesis desempeña un papel significativo.

La elucidación de VEGF y su papel en la angiogénesis y diferentes procesos ha proporcionado una nueva diana potencial de intervención terapéutica. La función de VEGF se ha inhibido por moléculas pequeñas que bloquean o previenen la activación de tirosina quinasas receptoras de VEGF (Schlaeppli y Wood, 1999, Cancer Metastasis Rev., 18: 473-481) y en consecuencia interfieren con la ruta de transducción de señales del receptor de VEGF. Los conjugados citotóxicos que contienen toxinas bacterianas o vegetales pueden inhibir el efecto estimulante de VEGF en angiogénesis tumoral. Los conjugados de toxina VEGF-DT385 (dominios de toxina diftérica fusionados o conjugados químicamente con VEGF165), por ejemplo, inhiben eficazmente el crecimiento tumoral *in vivo*. La inhibición de crecimiento tumoral también podría conseguirse suministrando un mutante de Flk-1 o receptores de VEGF solubles por un retrovirus.

Se han desarrollado anticuerpos neutralizadores de VEGF, tales como A4.6.1 y MV833, para bloquear la unión de VEGF con sus receptores y han mostrado actividad antitumoral preclínica (Kim et al. Nature 1993, 362: 841-844; Folkman Nat. Med. 1995, 1: 27-31; Presta et al. Cancer Res. 1997, 57: 4593-4599; Kanai et al. Int. J. Cancer 1998, 77: 933-936; Ferrara y Alitalo Nat. Med. 1999, 5: 1359-1364; 320, 340). Para una revisión de ensayos de enfoques terapéuticos anti-VEGF, véase Campochiaro y Hackett (Oncogene 2003, 22: 6537-6548).

La mayor parte de la experiencia clínica se ha obtenido con A4.6.1, también llamado bevacizumab (Avastin®; Genentech, San Francisco, CA).

El documento WO2008/101985 describe dominios variables sencillos de inmunoglobulina de camélidos (VHH o "Nanobodies®" como se define en la presente memoria), que se unen a VEGF, y su uso en el tratamiento de afecciones y enfermedades caracterizadas por angiogénesis o neovascularización excesiva y/o patológica.

WO2010/040508 describe anticuerpos anti-VEGF/anti-Ang-2 bispecíficos. Las moléculas dadas a conocer en el mismo por sus secuencias específicas son anticuerpos de cuatro cadenas clásicas, que tienen una segunda especificidad debido a una parte de unión adicional, esp. una porción de unión a scFv, fusionada al extremo C-terminal de las cadenas pesadas ("CrossMabs").

El artículo publicado por Kienast et al.: "Ang-2-VEGF-A CrossMab, a Novel Bispecific Human IgG1 Antibody Blocking VEGF-A and Ang-2 Functions Simultaneously, Mediates Potent Antitumor Antiangiogenic, and Antimetastatic Efficacy" (2013); Clinical Cancer Research 19(24); páginas 6730-6740; da a conocer más datos sobre una de las moléculas CrossMab dadas a conocer en WO2010/040508, e i.a. muestra una comparación con moléculas anti-Ang2 y Anti-VEGF-A con respecto a un efecto necrótico sobre los tumores.

Ha sido un objeto de la presente invención proporcionar nuevas moléculas de unión anti-angiogénicas para terapia humana.

Ha sido un objeto adicional de la invención proporcionar métodos para la prevención, tratamiento, alivio y/o diagnóstico de tales enfermedades, trastornos o afecciones, que implican el uso y/o administración de tales moléculas de unión y composiciones que las comprenden. En particular, ha sido un objeto de la invención proporcionar tales moléculas de unión farmacológicamente activas, composiciones y/o métodos que proporcionan ventajas en comparación con los agentes, composiciones y/o métodos usados actualmente y/o conocidos en la técnica. Estas ventajas incluyen propiedades terapéuticas y/o farmacológicas mejoradas y/u otras propiedades ventajosas, por ejemplo, para fines de fabricación, especialmente en comparación con anticuerpos convencionales como los descritos anteriormente, o fragmentos de los mismos.

Breve resumen de la invención

De acuerdo con un primer aspecto, se proporcionan moléculas de unión biespecíficas como se definen en las reivindicaciones 1 a 3.

En otro aspecto, la invención se refiere a ácidos nucleicos que codifican las moléculas de unión biespecíficas de la invención así como a células hospedadoras que los contienen.

La invención se refiere además a un producto o composición que contiene o que comprende al menos una molécula de unión biespecífica de la invención y opcionalmente uno o más componentes adicionales de dichas composiciones.

La invención se refiere además a métodos para preparar o generar las moléculas de unión biespecíficas, ácidos nucleicos, células hospedadoras, productos y composiciones descritas en el presente documento.

La invención se refiere además a aplicaciones y usos de las moléculas de unión biespecíficas, ácidos nucleicos, células hospedadoras, productos y composiciones descritas en el presente documento, así como a métodos para la prevención y/o tratamiento de enfermedades y trastornos que pueden modularse por inhibición de Ang2.

Se ha descubierto que el componente de unión a Ang2 de las moléculas de unión biespecíficas de acuerdo con la presente invención se une y antagoniza Ang2 con una potencia al menos 5.000 veces mayor, preferiblemente 10.000 veces mayor que a Ang1 o Ang4. Esto evitará en gran medida la activación bloqueante de la señalización mediada por Ang1, que contrarrestaría el efecto antiangiogénico deseado.

Además, se ha descubierto que el componente de unión a VEGF de las moléculas de unión biespecíficas de acuerdo con la presente invención se une a VEGF-A con una afinidad al menos 1.000 veces mayor, preferiblemente al menos 5.000 veces mayor, más preferiblemente al menos 10.000 veces mayor que a VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D o PLGF. Debido a la unión altamente preferente con VEGF-A no se interfiere con la señalización de VEGFR3, que modula la angiogénesis linfática.

Las moléculas de unión biespecíficas de la presente invención se proporcionan como dominios VHH unidos. Dichas moléculas son significativamente más pequeñas que los anticuerpos convencionales y, por lo tanto, pueden penetrar en un tumor a una mayor profundidad que dichos anticuerpos convencionales. Esta ventaja se acentúa adicionalmente por las secuencias específicas descritas en el presente documento después de liberarse de los sitios de glucosilación.

Además, debido a la naturaleza biespecífica (componentes de unión a VEGF y Ang2 en una molécula), la penetración en el tumor de las dos funcionalidades necesariamente será igual, lo cual asegurará que los efectos beneficiosos del antagonismo combinado de VEGF y Ang2 se proporcionen en toda la profundidad de penetración del tumor. Esto es una ventaja con respecto a la combinación de antagonistas individuales contra estas dianas, ya que la profundidad de penetración de los antagonistas individuales siempre variará en alguna medida.

Otra ventaja de las moléculas de unión biespecíficas preferidas de la presente invención es su mayor semivida en suero debido a un componente de unión a albúmina sérica tal como una molécula de unión a albúmina sérica como se describe en el presente documento.

Estos y otros aspectos, realizaciones, ventajas y aplicaciones de la invención se harán evidentes tras la descripción adicional proporcionada a continuación.

Definiciones

A menos que se indique o se definan de otra manera, todos los términos usados tienen su significado habitual en la técnica, que será evidente para el experto en la materia. Se hace referencia, por ejemplo, a manuales convencionales tales como Sambrook *et al.*, "Molecular Cloning: A Laboratory Manual" (2ª Ed.), Vol. 1-3, Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989); Lewin, "Genes IV", Oxford University Press, Nueva York, (1990), y Roitt *et al.*, "Immunology" (2ª Ed.), Gower Medical Publishing, London, New York (1989), así como a la técnica antecedente general citada en el presente documento. Además, a menos que se indique otra cosa, todos los métodos, etapas, técnicas y manipulaciones que no se describen específicamente con detalle pueden realizarse y se han realizado de una manera conocida *per se*, como será evidente para el experto en la materia. Por ejemplo, de nuevo se hace

referencia a manuales convencionales, a la técnica antecedente general mencionada anteriormente y a otras referencias citadas en el presente documento.

La expresión “molécula de unión biespecífica” se refiere a una molécula que comprende al menos una molécula de unión a Ang2 (o “componente de unión a Ang2”) y al menos una molécula de unión a VEGF (o “componente de unión a VEGF”). Una molécula de unión biespecífica puede contener más de una molécula de unión a Ang2 y/o más de una molécula de unión a VEGF, es decir, en caso de que la molécula de unión biespecífica contenga una molécula de unión a Ang2 biparatópica (como se define más adelante) y/o una molécula de unión a VEGF biparatópica, en la parte de la molécula que se une a Ang2 o a VEGF, es decir, en su “componente de unión a Ang2” (o componente anti-Ang2) o “componente de unión a VEGF” (o componente anti-VEGF), respectivamente. Sin embargo, la palabra “biespecífico” en este contexto no debe considerarse excluyente de componentes de unión adicionales con especificidad de unión a moléculas distintas de VEGF y Ang2 de la molécula de unión biespecífica. Son ejemplos no limitantes de dichos componentes de unión adicionales componentes de unión que se unen a la albúmina sérica.

A menos que se indique otra cosa, los términos “*inmunoglobulina*” y “*secuencia de inmunoglobulina*” – tanto si se usan en el presente documento para hacer referencia a un *anticuerpo de cadena pesada* como si se usan para hacer referencia a un *anticuerpo de cuatro cadenas convencional* – se usan como términos generales para incluir el anticuerpo de tamaño completo, las cadenas individuales del mismo, así como todas las partes, dominios o fragmentos del mismo (incluyendo, pero sin limitación, dominios de unión a antígeno o fragmentos tales como dominios VHH o dominios VH/VL, respectivamente). Además, generalmente debe entenderse que el término “secuencia”, como se usa en el presente documento (por ejemplo, en términos tales como “secuencia de inmunoglobulina”, “secuencia de anticuerpo”, “secuencia de dominio variable (individual)”, “secuencia de VHH” o “secuencia de proteína”), incluye tanto la secuencia de aminoácidos relevante como las secuencias de ácido nucleico o secuencias de nucleótidos que los codifican, a menos que el contexto requiera una interpretación más limitada.

El término “*dominio*” (de un polipéptido o proteína), como se usa en el presente documento, se refiere a una estructura de proteína plegada que tiene la capacidad de conservar su estructura terciaria independientemente del resto de la proteína. En general, los dominios son responsables de las propiedades funcionales discretas de las proteínas, y en muchos casos pueden añadirse, retirarse o transferirse a otras proteínas sin pérdida de función del resto de la proteína y/o del dominio.

La expresión “*dominio de inmunoglobulina*”, como se usa en el presente documento, se refiere a una región globular de una cadena de anticuerpo (tal como, por ejemplo, una cadena de un anticuerpo de 4 cadenas convencional o de un anticuerpo de cadena pesada), o a un polipéptido que consiste esencialmente en dicha región globular. Los dominios de inmunoglobulina se caracterizan por retener el plegamiento de inmunoglobulina característico de las moléculas de anticuerpo, que consiste en un sándwich de 2 capas de aproximadamente 7 cadenas beta antiparalelas dispuestas en dos láminas beta, opcionalmente estabilizado por un enlace disulfuro conservado. Un dominio de inmunoglobulina comprende (a) uno o más dominios variables, es decir, uno o más dominios variables de inmunoglobulina.

La expresión “*dominio variable de inmunoglobulina*”, como se usa en el presente documento, significa un dominio de inmunoglobulina que consiste esencialmente en cuatro “regiones marco”, que se denominan en la técnica y más adelante en el presente documento “región marco 1” o “FR1”; “región marco 2” o “FR2”; “región marco 3” o “FR3”; y “región marco 4” o “FR4”, respectivamente; estando dichas regiones marco interrumpidas por tres “regiones determinantes de complementariedad” o “CDR”, que se denominan en la técnica y más adelante en el presente documento “región determinante de complementariedad 1” o “CDR1”; “región determinante de complementariedad 2” o “CDR2”; y “región determinante de complementariedad 3” o “CDR3”, respectivamente. De esta manera, la estructura general o secuencia de un dominio variable de inmunoglobulina puede indicarse como se indica a continuación: FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4. Es el dominio o dominios variables de inmunoglobulina los que confieren especificidad a un anticuerpo por el antígeno al llevar el sitio de unión al antígeno. Las moléculas de la presente invención incluyen dominios variables individuales de inmunoglobulina tales como VHH.

La expresión “*dominio variable individual de inmunoglobulina*”, como se usa en el presente documento, significa un dominio variable de inmunoglobulina que es capaz de unirse específicamente a un epítipo del antígeno sin emparejarse con un dominio de inmunoglobulina variable adicional. Un ejemplo de dominios variables individuales de inmunoglobulina en el significado de la presente invención son “*anticuerpos de dominio*”, tales como los dominios variables individuales de inmunoglobulina VH y VL (dominios VH y dominios VL). Otros ejemplos de dominios variables individuales de inmunoglobulina son los “*dominios VHH*” (o simplemente “VHH”) de camélidos, como se define más adelante en el presente documento.

En vista de la definición anterior, el dominio de unión a antígeno de un anticuerpo de cuatro cadenas convencional (tal como una molécula de IgG, IgM, IgA, IgD o IgE; conocida en la técnica) o de un fragmento Fab, un fragmento F(ab')₂, un fragmento Fv tal como un Fv con enlaces disulfuro o un fragmento scFv, o un diacuerpo (todos ellos conocidos en la técnica) derivados de dichos anticuerpo de 4 cadenas convencional, normalmente no se

consideraría un dominio variable individual de inmunoglobulina ya que, en estos casos, la unión al epítipo respectivo de un antígeno normalmente no se produciría por un (solo) dominio de inmunoglobulina, sino por un par de dominios de inmunoglobulina (en asociación) tales como dominios variables de cadena ligera y pesada, es decir, por un par VH-VL de dominios de inmunoglobulina, que conjuntamente se unen a un epítipo del antígeno respectivo.

- 5 Los “dominios VHH”, también conocidos como VHH, dominios V_HH, fragmentos de anticuerpo VHH y anticuerpos VHH, se han descrito originalmente como el dominio de inmunoglobulina de unión a antígeno (variable) de “anticuerpos de cadena pesada” (es decir, de “anticuerpos que carecen de cadenas ligeras”; Hamers-Casterman C, Atarhouch T, Muyldermans S, Robinson G, Hamers C, Songa EB, Bendahman N, Hamers R.: “Naturally occurring antibodies devoid of light chains”; Nature 363, 446-448 (1993)). La expresión “dominio VHH” se ha elegido para
- 10 distinguir estos dominios variables de los dominios variables de cadena pesada que están presentes en los anticuerpos de 4 cadenas convencionales (que se denominan en el presente documento “dominios V_H” o “dominios VH”) y de los dominios variables de cadena ligera que están presentes en los anticuerpos de 4 cadenas convencionales (que se denominan en el presente documento “dominios V_L” o “dominios VL”). Los dominios VHH pueden unirse específicamente a un epítipo sin un dominio de unión a antígeno adicional (en contraposición a los
- 15 dominios VH o VL en un anticuerpo de 4 cadenas convencional, en cuyo caso el epítipo se reconoce por un dominio VL junto con un dominio VH). Los dominios VHH son unidades de reconocimiento de antígeno pequeñas, sólidas y eficaces formadas por un solo dominio de inmunoglobulina.

En el contexto de la presente invención, los términos dominio VHH, VHH, dominio V_HH, fragmento de anticuerpo VHH, anticuerpo VHH, así como “Nanobody[®]” y “dominio de Nanobody[®]” (siendo “Nanobody” una marca comercial

20 de la compañía Ablynx N. V.; Ghent; Bélgica) se usan indistintamente y representan dominios variables individuales de inmunoglobulina (que tienen la estructura FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4 y, específicamente, que se unen a un epítipo sin necesitar la presencia de un segundo dominio variable de inmunoglobulina), y que se distinguen de los dominios VH por los denominados “restos característicos (hallmark residues)”, como se define, por ejemplo, en el documento WO2009/109635, Fig. 1.

25 Los restos de aminoácido de un dominio variable individual de inmunoglobulina, por ejemplo, un VHH, se enumeran de acuerdo con la numeración general para dominios V_H proporcionada por Kabat *et al.* (“Sequence of proteins of immunological interest”, US Public Health Services, NIH Bethesda, MD, Publication No. 91), como se aplica a dominios VHH de camélidos, como se muestra, por ejemplo, en la Figura 2 de Riechmann y Muyldermans, J. Immunol. Methods 231, 25-38 (1999). De acuerdo con esta numeración,

- 30
- FR1 comprende los restos de aminoácido en las posiciones 1-30,
 - CDR1 comprende los restos de aminoácido en las posiciones 31-35,
 - FR2 comprende los restos de aminoácidos en las posiciones 36-49,
 - CDR2 comprende los restos de aminoácido en las posiciones 50-65,
 - FR3 comprende los restos de aminoácido en las posiciones 66-94,
- 35
- CDR3 comprende los restos de aminoácido en las posiciones 95-102, y
 - FR4 comprende los restos de aminoácido en las posiciones 103-113.

Sin embargo, debe indicarse que – como es bien conocido en la técnica para dominios V_H y para dominios VHH – el número total de restos de aminoácido en cada una de las CDR puede variar y puede no corresponder al número total de restos de aminoácido indicado por la numeración de Kabat (es decir, una o más posiciones de acuerdo con

40 la numeración de Kabat pueden no estar ocupadas en la secuencia real, o la secuencia real puede contener más restos de aminoácido que el número permitido por la numeración de Kabat). Esto significa que, en general, la numeración de acuerdo con Kabat puede corresponder o no a la numeración real de los restos de aminoácido en la secuencia real.

En la técnica se conocen métodos alternativos para numerar los restos de aminoácidos de dominios V_H, pudiendo aplicarse dichos métodos de una manera análoga a dominios VHH. Sin embargo, en la presente descripción, reivindicaciones y figuras, se seguirá la numeración de acuerdo con Kabat y aplicada a los dominios VHH como se

45 ha descrito anteriormente, a menos que se indique otra cosa.

El número total de restos de aminoácido en un dominio VHH normalmente estará en el intervalo de 110 a 120, con frecuencia entre 112 y 115. Sin embargo, debe indicarse que también pueden ser adecuadas secuencias de menor y

50 mayor tamaño para los fines descritos en el presente documento.

Los dominios variables individuales de inmunoglobulina, por ejemplo, VHH y anticuerpos de dominio, de acuerdo con las realizaciones preferidas de la invención, tienen un número de características estructurales únicas y propiedades funcionales que hacen que sean muy ventajosos para uso en terapia como moléculas de unión a antígeno funcionales. En particular, y sin limitarse a ello, los dominios VHH (que se han “diseñado” por la naturaleza para

unirse funcionalmente a un antígeno sin emparejarse con un dominio variable de cadena ligera) pueden funcionar como unidades estructurales de unión a antígeno funcionales, relativamente pequeñas e individuales.

Debido a sus propiedades únicas, los dominios variables individuales de inmunoglobulina, como se definen en el presente documento, tales como VHH o VH (o VL) – solos o como parte de un polipéptido de mayor tamaño, por ejemplo, una molécula biparatópica – ofrecen varias ventajas significativas:

- se necesita sólo un dominio para unirse a un antígeno con alta afinidad y con alta selectividad, de forma que no se necesita tener dos dominios separados ni asegurarse de que estos dos dominios están presentes en la conformación y configuración espacial correcta (es decir, mediante el uso de enlazadores diseñados especialmente, como ocurre con los scFv);
- los dominios variables individuales de inmunoglobulina pueden expresarse a partir de una sola molécula de ácido nucleico y no necesitan ninguna modificación postraducciona (tal como glucosilación);
- los dominios variables individuales de inmunoglobulina pueden modificarse fácilmente por ingeniería genética en formatos multivalentes y multispecíficos (como se analiza adicionalmente en el presente documento);
- los dominios variables individuales de inmunoglobulina tienen alta especificidad y afinidad por su diana, baja toxicidad intrínseca y pueden administrarse mediante vías alternativas a la infusión o inyección;
- los dominios variables individuales de inmunoglobulina son muy estables al calor, pH, proteasas y otros agentes o condiciones desnaturalizantes y, por lo tanto, pueden prepararse, almacenarse o transportarse sin el uso de equipos de refrigeración;
- los dominios variables individuales de inmunoglobulina se pueden preparar de una manera relativamente fácil y barata, tanto a pequeña escala como a escala de fabricación. Por ejemplo, pueden producirse dominios variables individuales de inmunoglobulina usando fermentación microbiana (por ejemplo, como se describe adicionalmente más adelante) y no requieren el uso de sistemas de expresión de mamífero, como ocurre, por ejemplo, con los anticuerpos convencionales;
- los dominios variables individuales de inmunoglobulina son relativamente pequeños (de aproximadamente 15 kDa, o 10 veces más pequeños que una IgG convencional) en comparación con los anticuerpos de 4 cadenas convencionales y los fragmentos de unión a antígeno de los mismos, y por lo tanto muestran una mayor penetración en tejidos (incluyendo, pero sin limitación tumores sólidos y otros tejidos densos) y pueden administrarse en dosis mayores que dichos anticuerpos de 4 cadenas convencionales y fragmentos de unión a antígeno de los mismos;
- Los VHH tienen las denominadas “propiedades de unión a cavidades” específicas (entre otras cosas, debido a su bucle CDR3 extendido, en comparación con dominios VH de anticuerpos de 4 cadenas) y, por lo tanto, también puede acceder a dianas y epítopos no accesibles para los anticuerpos de 4 cadenas convencionales y fragmentos de unión a antígeno de los mismos;
- Los VHH tienen la ventaja particular de que son muy solubles y muy estables y no tienen tendencia a agregar (como ocurre con los dominios de unión a antígeno derivados de ratón descritos por Ward *et al.*, Nature 341: 544-546 (1989)).

Los dominios variables individuales de inmunoglobulina de la invención no están limitados con respecto a una fuente biológica específica a partir de la cual se han obtenido o a un método específico de preparación. Por ejemplo, la obtención de VHH puede incluir las siguientes etapas:

- (1) aislamiento del dominio VHH de un anticuerpo de cadena pesada natural; o exploración de una biblioteca que comprende anticuerpos de cadena pesada o VHH y aislamiento de VHH a partir de los mismos;
- (2) expresión de una molécula de ácido nucleico que codifica un VHH con la secuencia natural;
- (3) “humanización” (como se describe en el presente documento) de un VHH, opcionalmente después de maduración de afinidad, con una secuencia natural o expresión de un ácido nucleico que codifica dicho VHH humanizado;
- (4) “camelización” (como se describe más adelante) de un dominio pesado variable individual de inmunoglobulina a partir de un anticuerpo natural de una especie animal, en particular una especie de mamífero, tal como de un ser humano, o expresión de una molécula de ácido nucleico que codifica dicho dominio camelizado;
- (5) “camelización” de un VH, o expresión de una molécula de ácido nucleico que codifica dicho VH camelizado;
- (6) uso de técnicas para preparar de forma sintética o semisintética proteínas, polipéptidos u otras secuencias de aminoácidos;

(7) preparación de una molécula de ácido nucleico que codifica un dominio VHH usando técnicas para la síntesis de ácidos nucleicos, seguido de expresión del ácido nucleico obtenido de esta manera;

(8) sometimiento de anticuerpos de cadena pesada o VHH a maduración de afinidad, a mutagénesis (por ejemplo, mutagénesis aleatoria o mutagénesis dirigida) y/o cualquier otra técnica para aumentar la afinidad y/o especificidad del VHH; y/o

(9) combinaciones o selecciones de las etapas anteriores.

En la técnica se conocen métodos y técnicas adecuadas para realizar las etapas descritas anteriormente y serán evidentes para el experto en la materia. A modo de ejemplo, en los documentos WO2006/040153 y WO2006/122786 se han descrito métodos de obtención de dominios VHH que se unen a un antígeno o epítipo específico.

De acuerdo con realizaciones específicas, los dominios variables individuales de inmunoglobulina de la invención o presentes en los polipéptidos de la invención son dominios VHH con una secuencia de aminoácidos que corresponde esencialmente a la secuencia de aminoácidos de un dominio VHH natural, pero que se ha "humanizado" o "de secuencia optimizada" (opcionalmente, después de la maduración de afinidad), es decir, mediante el reemplazo de uno o mas restos de aminoácido en la secuencia de aminoácidos de dicha secuencia de VHH natural por uno o más de los restos de aminoácido que aparecen en la posición o posiciones correspondientes en un dominio pesado variable de un anticuerpo de 4 cadenas convencional procedente de un ser humano. Esto puede realizarse usando métodos conocidos en la técnica, que pueden usarse rutinariamente por el experto en la materia.

Un dominio VHH humanizado puede contener una o más secuencias de región marco completamente humanas y, en una realización incluso más específica, puede contener secuencias de región marco humanas procedentes de las secuencias de Vh3 de línea germinal humana DP-29, DP-47, DP-51, o partes de las mismas, o ser muy homólogo a las mismas, opcionalmente combinado con secuencias JH, tales como JH5. De esta manera, un protocolo de humanización puede comprender el reemplazo de cualquiera de los restos de VHH con los restos de la región marco 1, 2 y 3 (FRI, FR2 y FR3) correspondientes de genes de VH de la línea germinal tales como DP 47, DP 29 y DP 51 solos o en combinación. Pueden seleccionarse regiones marco (FR) adecuadas de los dominios variables individuales de inmunoglobulina de la invención entre los indicados, por ejemplo, en el documento WO 2006/004678 y, específicamente, incluyen las denominadas clases "KERE" y "GLEW". Son ejemplos dominios variables individuales de inmunoglobulina que tienen la secuencia de aminoácidos G-L-E-W aproximadamente en las posiciones 44 a 47, y sus homólogos humanizados respectivos. Un dominio VHH humanizado puede contener una o más secuencias de región marco completamente humanas.

A modo de ejemplo, una sustitución de humanización para VHH que pertenece al grupo 103 P, R, S y/ al grupo GLEW (como se define más adelante) es 108Q a 108L. En la técnica se conocen métodos para humanizar dominios variables individuales de inmunoglobulina.

La unión de dominios variables individuales de inmunoglobulina con propiedades mejoradas en vista de la aplicación terapéutica, por ejemplo, mayor afinidad o menor inmunogenicidad, puede conseguirse a partir de moléculas de unión individuales por técnicas conocidas en este campo, tales como maduración de afinidad (por ejemplo, partiendo de secuencias de inmunoglobulina sintéticas aleatorias o naturales), injerto de CDR, humanización, combinación de fragmentos derivados de diferentes secuencias de inmunoglobulina, ensamblaje por PCR usando cebadores solapantes y técnicas similares para modificar por ingeniería genética secuencias de inmunoglobulina bien conocidas por el experto en la materia; o cualquier combinación adecuada de cualquiera de los anteriores, también denominada "optimización de secuencia" como se describe en el presente documento. Se hace referencia, por ejemplo, a manuales convencionales, así como a la descripción adicional y los Ejemplos.

Si es apropiado, puede obtenerse una molécula de unión con mayor afinidad por maduración de afinidad de otra molécula de unión, representando esta última, con respecto a la molécula madurada por afinidad, la molécula de unión "parental".

Anteriormente se han descrito métodos para obtener VHH que se unen a un antígeno o epítipo específico, por ejemplo, en los documentos WO2006/040153 y WO2006/122786. Como también se describe con detalle en dichos documentos, los dominios VHH derivados de camélidos pueden "humanizarse" (también denominado "optimizarse su secuencia" en el presente documento, "la optimización de secuencia" puede, además de la humanización, incluir una modificación adicional de la secuencia por una o más mutaciones que proporcionan al VHH propiedades mejoradas, tales como la eliminación de sitios de modificación postraduccionales potenciales) reemplazando uno o más restos de aminoácido de la secuencia de aminoácidos de la secuencia de VHH original por uno o más de los restos de aminoácido que aparecen en la posición o posiciones correspondientes en un dominio VH de un anticuerpo de 4 cadenas convencional de un ser humano. Un dominio VHH humanizado puede contener una o más secuencias de región marco completamente humanas y, en una realización incluso más específica, puede contener secuencias de región marco humana derivadas de DP-29, DP-47, DP-51, o partes de las mismas, opcionalmente combinadas con secuencias de JH, tales como JH5.

Los *anticuerpos de dominio*, también conocidos como “Dab” y “dAb” (usándose los términos “Anticuerpos de Dominio” y “dAb” como marcas comerciales por el grupo de compañías GlaxoSmithKline) se han descrito, por ejemplo, en Ward, E. S., *et al.*: “Binding activities of a repertoire of single immunoglobulin variable domains secreted from *Escherichia coli*”; *Nature* 341: 544-546 (1989); Holt, L. J. *et al.*: “Domain antibodies: proteins for therapy”; *TRENDS in Biotechnology* 21(11): 484-490 (2003); y en el documento WO2003/002609.

Los anticuerpos de dominio corresponden esencialmente a los dominios VH o VL de anticuerpos de mamíferos no camélidos, en particular anticuerpos de 4 cadenas humanas. Para unirse a un epítipo como un dominio de unión de un solo antígeno, es decir, sin emparejarse con un dominio VL o VH, respectivamente, se necesita la selección específica de dichas propiedades de unión a antígeno, por ejemplo, usando bibliotecas de secuencias de dominios VH o VL individuales humanas.

Los dominios de anticuerpos tienen, al igual que las VHH, un peso molecular de aproximadamente 13 a aproximadamente 16 kDa y, si proceden de secuencias completamente humanas, no requieren humanización, por ejemplo, para uso terapéutico en seres humanos. Como ocurre con los dominios VHH, también se expresan bien en sistemas de expresión procariotas, proporcionando una reducción significativa en el coste de fabricación global.

Además, también será evidente para el experto en la materia que es posible “injertar” una o más de las CDR mencionadas anteriormente en otros “armazones” que incluyen, pero sin limitación, armazones humanos o armazones que no son inmunoglobulinas. En la técnica se conocen armazones adecuados y técnicas para dichos injertos de CDR.

Los términos “*epítipo*” y “*determinante antigénico*”, que pueden usarse indistintamente, se refieren a la parte de una macromolécula, tal como un polipéptido, que se reconoce por moléculas de unión a antígeno, tales como anticuerpos convencionales o los polipéptidos de la invención y, más particularmente, por el sitio de unión a antígeno de dichas moléculas. Los epítipos definen el sitio de unión mínimo para una inmunoglobulina y, por lo tanto, representan la diana de especificidad de una inmunoglobulina.

Un polipéptido (tal como una inmunoglobulina, un anticuerpo, un dominio variable individual de inmunoglobulina de la invención o, en general, una molécula de unión a antígeno o un fragmento de la misma) que puede “*unirse a*” o “*unirse específicamente a*”, que “*tiene afinidad por*” y/o que “*tiene especificidad por*” un cierto epítipo, antígeno o proteína (o por al menos una parte, fragmento o epítipo de la misma) se dice que está “*contra*” o “*dirigido contra*” dicho epítipo, antígeno o proteína o es una molécula de “*unión*” con respecto a dicho epítipo, antígeno o proteína. En este contexto, un componente de unión a VEGF también puede denominarse “*neutralizante de VEGF*”.

En general, el término “*especificidad*” se refiere al número de tipos diferentes de antígenos o epítipos a los que puede unirse una molécula de unión a antígeno o proteína de unión a antígeno particular (tal como un dominio variable individual de inmunoglobulina de la invención). La especificidad de una molécula de unión a antígeno puede determinarse basándose en su afinidad y/o aidez. La afinidad, representada por la constante de equilibrio para la disociación de un antígeno con una proteína de unión a antígeno (KD), es una medida de la fuerza de unión entre un epítipo y un sitio de unión a antígeno en la proteína de unión a antígeno: cuanto menor es el valor de la KD, mayor es la fuerza de unión entre un epítipo y la molécula de unión a antígeno (como alternativa, la afinidad también puede expresarse como la constante de afinidad (KA), que es 1/KD). Como será evidente para el experto en la materia (por ejemplo, basándose en la divulgación adicional del presente documento), la afinidad puede determinarse de una manera conocida per se, dependiendo del antígeno específico de interés. La aidez es la medida de la fuerza de unión entre una molécula de unión a antígeno (tal como una inmunoglobulina, un anticuerpo, un dominio variable individual de inmunoglobulina o un polipéptido que lo contiene y el antígeno pertinente). La aidez está relacionada tanto con la afinidad entre un epítipo y su sitio de unión a antígeno en la molécula de unión a antígeno como con el número de sitios de unión pertinentes presentes en la molécula de unión a antígeno.

La parte de una molécula de unión a antígeno que reconoce el epítipo se denomina *parátipo*.

A menos que se indique otra cosa, la expresión “molécula de unión a VEGF” o “molécula de unión a Ang2” incluye anticuerpos anti-VEGF o anti-Ang2, fragmentos de anticuerpos anti-VEGF o fragmentos de anticuerpos anti-VEGF, “moléculas similares a anticuerpos anti-VEGF” o “moléculas similares a anticuerpos anti-Ang2”, como se define en el presente documento, y conjugados con cualquiera de éstos. Los anticuerpos incluyen, pero sin limitación, anticuerpos monoclonales y monoclonales quimerizados. El término “anticuerpo” incluye inmunoglobulinas completas, tales como anticuerpos monoclonales producidos por expresión recombinante en células hospedadoras, así como fragmentos de anticuerpo o “moléculas similares a anticuerpos”, incluyendo anticuerpos monocatenarios y anticuerpos lineales, denominados “SMIP” (“Inmunofarmacéuticos Modulares Pequeños”), como se describe, por ejemplo, en el documento WO 2002/056910; las moléculas similares a anticuerpos incluyen dominios variables individuales de inmunoglobulina como se definen en el presente documento. Otros ejemplos para moléculas similares a anticuerpos son anticuerpos de superfamilia de inmunoglobulinas (IgSF) o moléculas con CDR injertadas.

Las expresiones “*molécula de unión a Ang2*” o “*molécula de unión a VEGF*”, respectivamente, se refieren a moléculas de unión a dianas monovalentes (es decir, moléculas que se unen a un epítipo de la diana respectiva) así como a moléculas de unión bi- o multivalentes (es decir, moléculas de unión que se unen a más de un epítipo, por

ejemplo, moléculas “biparatópicas” como se definen más adelante en el presente documento. Las moléculas de unión a Ang2 (o VEGF) que contienen más de un dominio variable individual de inmunoglobulina de unión a Ang2 (o VEGF) también se denominan moléculas de unión “formateadas”, éstas, dentro del componente de unión a la diana, además de los dominios variables individuales de inmunoglobulina, pueden comprender enlazadores y/o restos con funciones efectoras, por ejemplo, restos que prolongan la semivida tales como dominios variables individuales de inmunoglobulina de unión a albúmina, y/o un compañero de fusión tal como albúmina sérica y/o un polímero unido tal como PEG.

Las expresiones “molécula de unión a Ang2 (o VEGF) biparatópica” o “dominio variable individual de inmunoglobulina biparatópico”, como se usan en el presente documento, significarán una molécula de unión que comprende un primer dominio variable individual de inmunoglobulina y un segundo dominio variable individual de inmunoglobulina como se definen en el presente documento, donde las dos moléculas se unen a dos epítomos no solapantes del antígeno respectivo. Las moléculas de unión biparatópicas se componen de dominios variables individuales de inmunoglobulina que tienen diferentes especificidades con respecto al epítomo. La parte de una molécula de unión a antígeno (tal como un anticuerpo o un dominio variable individual de inmunoglobulina de la invención) que reconoce el epítomo se denomina *parátomo*.

Una molécula de unión formateada, aunque es menos preferido, también puede comprender dos dominios variables individuales de inmunoglobulina idénticos o dos dominios variables individuales de inmunoglobulina diferentes que reconocen los mismos epítomos o epítomos solapantes o su antígeno respectivo. En este caso, con respecto al VEGF, los dos dominios variables individuales de inmunoglobulina pueden unirse al mismo epítomo o a un epítomo solapante en cada uno de los dos monómeros que forman el dímero de VEGF.

Típicamente, las moléculas de unión de la invención se unirán con una constante de disociación (K_D) de 10^{-5} a 10^{-14} moles/litro (M) o menor, y preferiblemente de 10^{-7} a 10^{-14} moles/litro (M) o menor, más preferiblemente de 10^{-8} a 10^{-14} moles/litro, e incluso más preferiblemente de 10^{-11} a 10^{-13} , como se mide, por ejemplo, en un ensayo Biacore o en un ensayo Kinexa), y/o con una constante de asociación (K_A) de al menos 10^7 M^{-1} , preferiblemente al menos 10^8 M^{-1} , más preferiblemente al menos 10^9 M^{-1} , tal como al menos 10^{11} M^{-1} . Generalmente se considera que cualquier valor de K_D mayor de 10^{-4} M indica unión no específica. Preferiblemente, un polipéptido de la invención se unirá al antígeno deseado, es decir VEGF o Ang2, respectivamente, con una K_D menor de 500 nM, preferiblemente menor de 200 nM, más preferiblemente menor de 10 nM, tal como menor de 500 pM. La unión específica de una proteína de unión a antígeno a un antígeno o epítomo puede determinarse de cualquier manera adecuada conocida per se, incluyendo, por ejemplo, los ensayos descritos en la presente memoria, análisis de Scatchard y/o ensayos de unión competitiva, tales como radioinmunoensayos (RIA), inmunoensayos enzimáticos (EIA) y ensayos de competición de sándwich, y las diferentes variantes de los mismos conocidos per se en la técnica.

Los restos de aminoácidos se indicarán de acuerdo con el código de aminoácidos convencionales de tres letras o una letra, como se conoce generalmente y se ha convenido en la técnica. Cuando se comparan dos secuencias de aminoácidos, la expresión “*diferencia de aminoácidos*” se refiere a inserciones, deleciones o sustituciones del número indicado de restos de aminoácidos en una posición de la secuencia de referencia, en comparación con una segunda secuencia. En el caso de las sustituciones, dichas sustituciones preferiblemente serán sustituciones de aminoácidos conservativas, lo que significa que un resto de aminoácido se reemplaza por otro resto de aminoácido de estructura química similar y que tiene una influencia pequeña o esencialmente nula sobre la función, actividad u otras propiedades biológicas del polipéptido. Dichas sustituciones de aminoácidos conservativas son bien conocidas en la técnica, por ejemplo, por el documento WO 1998/49185, donde las sustituciones de aminoácidos conservativas preferiblemente son sustituciones en las que un aminoácido dentro de los siguientes grupos (i) – (v) se sustituye por otro resto de aminoácido dentro del mismo grupo: (i) restos alifáticos pequeños, no polares o ligeramente polares: Ala, Ser, Thr, Pro y Gly; (ii) restos polares cargados negativamente y sus amidas (sin carga): Asp, Asn, Glu y Gln; (iii) restos polares cargados positivamente: His, Arg y Lys; (iv) restos alifáticos grandes no polares: Met, Leu, Ile, Val y Cys; y (v) restos aromáticos: Phe, Tyr y Trp. Son sustituciones de aminoácidos conservativas particularmente preferidas las siguientes: Ala por Gly o por Ser; Arg por Lys; Asn por Gln o por His; Asp por Glu; Cys por Ser; Gln por Asn; Glu por Asp; Gly por Ala o por Pro; His por Asn o por Gln; Ile por Leu o por Val; Leu por Ile o por Val; Lys por Arg, por Gln o por Glu; Met por Leu, por Tyr o por Ile; Phe por Met, por Leu o por Tyr; Ser por Thr; Thr por Ser; Trp por Tyr; Tyr por Trp o por Phe; Val por Ile o por Leu.

Una molécula de polipéptido o ácido nucleico se considera “(en) (forma) esencialmente aislada” - por ejemplo, en comparación con su fuente biológica nativa y/o el medio de reacción o el medio de cultivo a partir del cual se ha obtenido - cuando se ha separado de al menos otro componente con el cual normalmente está asociada en dicha fuente o medio, tal como otra proteína/polipéptido, otro ácido nucleico, otro componente biológico o macromolécula o al menos un contaminante, impureza o componente minoritario. En particular, un polipéptido o molécula de ácido nucleico se considera “esencialmente aislada” cuando se ha purificado al menos 2 veces, en particular al menos 10 veces, más en particular al menos 100 veces y hasta 1000 veces o más. Una molécula de polipéptido o ácido nucleico que está “en forma esencialmente aislada” preferiblemente es esencialmente homogénea, como se determina usando una técnica adecuada, tal como una técnica cromatográfica adecuada, tal como electroforesis en gel de poliacrilamida.

La “*identidad de secuencia*” entre dos secuencias de moléculas de unión a VEGF o entre dos secuencias de

moléculas de unión a Ang2 indica el porcentaje de aminoácidos que son idénticos entre las secuencias. Puede calcularse o determinarse como se describe en el párrafo f) en las páginas 49 y 50 del documento WO 2008/020079. La "similitud de secuencia" indica el porcentaje de aminoácidos que son idénticos o que representan sustituciones de aminoácidos conservativas.

- 5 En la técnica se conocen métodos alternativos para numerar los restos de aminoácidos de dominios V_H, pudiendo aplicarse también dichos métodos de una manera análoga a los dominios V_HH. Sin embargo, en la presente descripción, reivindicaciones y figuras, se seguirá la numeración de acuerdo con Kabat y aplicada a dominios V_HH como se ha descrito anteriormente, a menos que se indique otra cosa.

- 10 Un molécula de unión a VEGF o molécula de unión a Ang2 "maduradas por afinidad", en particular un V_HH o un anticuerpo de dominio, tiene una o más alteraciones en una o más CDR que dan como resultado una mejor afinidad por VEGF o Ang2, en comparación con la molécula de unión a VEGF o molécula de unión a Ang2 parental respectiva. Las moléculas de unión a VEGF o moléculas de unión a Ang2 maduradas por afinidad de la invención pueden prepararse por métodos conocidos en la técnica, por ejemplo, como se describe por Marks *et al.*, 1992, *Biotechnology* 10:779-783, o Barbas, *et al.*, 1994, *Proc. Nat. Acad. Sci., Estados Unidos* 91: 3809 3813.; Shier *et al.*, 1995, *Gene* 169:147-155; Yelton *et al.*, 1995, *Immunol.* 155: 1994-2004; Jackson *et al.*, 1995, *J. Immunol.* 154(7): 3310-9; y Hawkins *et al.*, 1992, *J. Mol. Biol.* 226(3): 889 896; KS Johnson y RE Hawkins, "Affinity maturation of antibodies using phage display", Oxford University Press 1996.

- 20 Para la presente invención, una "secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: x": incluye, si no se indica otra cosa, una secuencia de aminoácidos que tiene una identidad del 100% con la secuencia mostrada en la SEQ ID NO: x respectiva.

- 25 Los términos "cáncer" y "canceroso" se refieren o describen la afección fisiológica en mamíferos que se caracteriza típicamente por crecimiento/proliferación celular desregulada. Los ejemplos de cáncer a tratar con una molécula de unión biespecífica de la invención incluyen, pero sin limitación, carcinoma, linfoma, blastoma, sarcoma y leucemia. Los ejemplos más particulares de dichos cánceres, sugeridos para el tratamiento con antagonistas de VEGF en el documento US 2008/0014196, incluyen cáncer de células escamosas, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de pulmón de células no pequeñas, adenocarcinoma de pulmón, carcinoma escamoso de pulmón, cáncer de peritoneo, cáncer hepatocelular, cáncer gastrointestinal, cáncer pancreático, glioblastoma, cáncer cervical, cáncer de ovario, cáncer hepático, cáncer de vejiga, hepatoma, cáncer de mama, cáncer de colon, cáncer colorrectal, carcinoma endometrial o uterino, carcinoma de glándulas salivares, cáncer renal, cáncer de hígado, cáncer de próstata, cáncer de vulva, cáncer de tiroides, carcinoma hepático, cáncer gástrico, melanoma y diversos tipos de
- 30 cáncer de cabeza y cuello. La desregulación de la angiogénesis puede conducir a muchos trastornos que pueden tratarse por composiciones y métodos de la invención. Estos trastornos incluyen tanto afecciones no neoplásicas como afecciones neoplásicas. Las neoplasias incluyen, pero sin limitación, las descritas anteriormente.

- 35 Los trastornos no neoplásicos incluyen, pero sin limitación, los sugeridos para el tratamiento con antagonistas de VEGF en el documento US 2008/0014196, hipertrofia indeseada o aberrante, artritis, artritis reumatoide (AR), psoriasis, placas psoriásicas, sarcoidosis, aterosclerosis, placas ateroscleróticas, retinopatía diabética y otras retinopatías proliferativas, incluyendo retinopatía del prematuro, fibroplasia retrolental, glaucoma neovascular, degeneración macular relacionada con la edad, edema macular diabético, neovascularización de la córnea, neovascularización de injerto de córnea, rechazo de injerto de córnea, neovascularización retiniana/coroidal,
- 40 neovascularización del ángulo iridocorneal (rubeosis), enfermedad neovascular ocular, reestenosis vascular, malformaciones arteriovenosas (AVM), meningioma, hemangioma, angiofibroma, hiperplasias de tiroides (incluyendo enfermedad de Grave), trasplante de córnea y otros tejidos, inflamación crónica, inflamación pulmonar, lesión pulmonar aguda/ARDS, sepsis, hipertensión pulmonar primaria, efusiones pulmonares malignas, edema cerebral (por ejemplo, asociado con ictus agudo/lesión craneal cerrada/traumatismo), inflamación sinovial, formación de pannus en AR, miositis ossificans, formación ósea hipertrófica, osteoartritis (OA), ascitis refractaria, enfermedad de ovario poliquístico, endometriosis, enfermedades de 3ª separación de fluidos (pancreatitis, síndrome compartimental, quemaduras, enfermedad intestinal), fibroides uterinos, parto prematuro, inflamación crónica tal como IBD (enfermedad de Crohn y colitis ulcerosa), rechazo de aloinjertos renales, enfermedad inflamatoria del intestino, síndrome nefrótico, crecimiento indeseado o aberrante de masas de tejidos (no cáncer), articulaciones hemofílicas,
- 50 cicatrices hipertróficas, inhibición del crecimiento del cabello, síndrome de Osier-Weber, granuloma piogénico, fibroplasias retrolentales, esclerodermia, tracoma, adhesiones vasculares, sinovitis, dermatitis, preeclampsia, ascitis, efusión pericárdica (tal como la asociada con pericarditis), y efusión pleural.

Descripción detallada de la invención

- 55 En un primer aspecto, la presente invención se refiere a una molécula de unión biespecífica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3..

Estas moléculas incluyen al menos un componente de unión a VEGF, al menos un componente de unión a Ang2, y al menos un componente de unión a albúmina sérica (molécula de unión a albúmina sérica).

El componente de unión a albúmina sérica de la molécula de unión de la presente invención es un dominio variable

individual de inmunoglobulina aislado o un polipéptido que contiene uno o más de dichos dominios variables individuales de inmunoglobulina, donde dicho dominio variable individual de inmunoglobulina consiste en cuatro regiones marco y tres regiones determinantes de complementariedad CDR1, CDR2 y CDR3, respectivamente, y donde dicha CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos mostrada en SEQ ID NO: 257.

- 5 Dicho uno o más dominios variables individuales de inmunoglobulina del componente de unión a albúmina sérica contiene
- a. una CDR3 con una secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 257;
 - b. una CDR1 con una secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 255;
 - c. una CDR2 con una secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 256.

- 10 En una realización más preferida, los dominios variables individuales de inmunoglobulina del componente de unión a albúmina sérica son VHH que tienen una secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 254.

En particular, la CDR3 del dominio de unión a VEGF tiene la secuencia SEQ ID NO: 4 SRAYGSSRLRLADTYEY.

De acuerdo con realizaciones preferidas, los dominios variables individuales de inmunoglobulina son VHH, preferiblemente un VHH que tiene la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 57.

- 15 El dominio variable individual de inmunoglobulina de unión a Ang-2 comprende al menos un dominio variable con cuatro regiones marco y tres regiones determinantes de complementariedad CDR1, CRD2 y CDR3, respectivamente, en el que dicha CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 250.

Dicho dominio variable individual de inmunoglobulina de unión a Ang-2 contiene

- a. una CDR3 con una secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 250 (véase también la Tabla 49):
- 20 b. una CDR1 con una secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 248 (véase también la Tabla 49);
- c. una CDR2 con una secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 249 (véase también la Tabla 49).

Preferiblemente, el dominio variable individual de inmunoglobulina del componente de unión a Ang2 es un VHH, preferiblemente que tiene la secuencia de aminoácidos SEQ ID NO: 222.

- 25 La presente invención, de esta manera, se refiere a moléculas de unión que comprenden un VHH de unión a Ang2 con una secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 222.

- Como se describe en el presente documento, las moléculas de unión de la presente invención se definen por las reivindicaciones 1 b y 3 y comprenden al menos un componente de unión a albúmina sérica, al menos un componente de unión a VEGF, y al menos un componente de unión a Ang2. El orden de estos tres componentes de unión podría ser cualquier orden posible tal como el orden indicado en la Tabla 45-B, 46-A, o 47-A; o en la Figura 30,
- 30 por ejemplo, el componente de unión a albúmina sérica, a Ang2 o a VEGF puede ser N-terminal o C-terminal. Particularmente, "1D01" (SEQ ID NO: 214), "11B07", "00027" (SEQ ID NO:216), "00908", "7G08" (SEQ ID NO:215), "00919", "00921" (SEQ ID NO: 220), "00928" (SEQ ID NO:221), "00932", "00933", "00934", "00935", "00936", "00937", "00938" (SEQ ID NO:222), o "00956" (SEQ ID NO:223) a los que se hace referencia en la leyenda de las Tablas y Figuras anteriormente mencionadas representan componentes de unión a Ang2, mientras que "00038"
- 35 representa un componente de unión a VEGF y "ALB11" representa un componente de unión a albúmina sérica. Ninguno de ellos debe considerarse una secuencia específica, sino que representa un componente de unión a Ang2, VEGF y albúmina sérica en general cuando se usa en el contexto de posibles preparaciones de moléculas de unión de la presente invención.

- 40 Sin embargo, se prefiere que el componente de unión a albúmina sérica esté entre el componente de unión a VEGF y Ang2 (o viceversa), mientras que es particularmente preferido que al menos un componente de unión a VEGF esté en posición N-terminal, seguido por al menos un componente de unión a albúmina sérica, seguido por al menos un componente de unión a Ang2 en el extremo C. Esta disposición se considera específicamente útil.

- 45 La presente invención se refiere, en un aspecto preferido, a moléculas de unión que comprenden al menos un componente de unión a VEGF, al menos un componente de unión a Ang2 y al menos un componente de unión a albúmina sérica que tiene una secuencia de aminoácidos indicada en SEQ ID NO: 207.

- Los componentes de unión a VEGF y/o Ang2 con propiedades mejoradas a la vista de la aplicación terapéutica, por ejemplo, afinidad potenciada o inmunogenicidad reducida, pueden obtenerse de componentes de unión a VEGF o Ang2 individuales por técnicas conocidas en la materia, tales como maduración de afinidad (por ejemplo, comenzando a partir de secuencias de inmunoglobulina sintéticas, aleatorias o de origen natural), injerto de CDR,
- 50 humanización, combinación de fragmentos derivados de diferentes secuencias de inmunoglobulina, ensamblaje por PCR usando cebadores solapantes y técnicas similares para obtener por ingeniería genética secuencias de

inmunoglobulina bien conocidas por el experto en la materia; o cualquier combinación adecuada de cualquiera de los anteriores, también denominada "optimización de secuencia", como se describe en la presente memoria. Se hace referencia, por ejemplo, a manuales convencionales, así como a la descripción y los Ejemplos adicionales.

Si resulta apropiado, puede obtenerse un componente de unión a VEGF o Ang2 contenido en las moléculas de la invención con afinidad aumentada por maduración de afinidad u otro componente de unión a VEGF o Ang2, representando el último, con respecto a la molécula de afinidad madurada, el componente de unión a VEGF "precursor".

En VHH de VEGF o Ang2 de las moléculas de la invención que comienzan con EVQ, el E N-terminal puede reemplazarse por un D (que con frecuencia es un resultado de optimización de secuencia) o puede faltar (como para expresión del VHH en *E. coli*). Para componentes de unión a VEGF formateado, esto se aplica habitualmente solamente al VHH que está situado en el extremo N terminal.

Una sustitución humanizante preferida, pero no limitante, para dominios de VHH de VEGF que pertenecen al grupo 103, P,R,S y/o el grupo GLEW (como se define posteriormente) es 108Q a 108L. Se conocen en la técnica métodos para humanizar dominios variables sencillos de inmunoglobulina. De acuerdo con otra realización, el dominio variable individual de inmunoglobulina es un anticuerpo de dominio, como se define en el presente documento.

En otra realización, los representantes de la clase de dominios variables individuales de inmunoglobulina de unión a VEGF y/o a Ang2 de la invención tienen secuencias de aminoácidos que corresponden a las secuencias de aminoácidos de un dominio de VH natural que se ha "camelizado", es decir, reemplazando uno o más restos de aminoácido en la secuencia de aminoácidos de una cadena pesada variable natural de un anticuerpo de 4 cadenas convencional por uno o más restos de aminoácidos que aparecen en la posición o posiciones correspondientes en un dominio VHH de un anticuerpo de cadena pesada. Esto puede realizarse de una manera conocida per se, que será evidente para el experto en la materia, y además se hace referencia al documento WO 1994/04678. Dicha camelización puede producirse preferentemente en posiciones de aminoácidos que están presentes en la interfaz VH-VL y en los denominados restos característicos de camélidos (véase también, por ejemplo, el documento WO 1994/04678). Puede tomarse una descripción detallada de dichas técnicas de "humanización" y "camelización" y secuencias de regiones marco preferidas coherentes con esto, por ejemplo, en la pág. 46 y en la pág. 98 del documento WO 2006/040153 y en la pág. 107 del documento WO 2006/122786.

Los componentes de unión a VEGF de las moléculas de la invención, es decir, los dominios variables individuales de inmunoglobulina, tienen especificidad por VEGF ya que se unen específicamente a uno o más epítomos dentro de la molécula de VEGF. Lo mismo ocurre para componentes de unión a Ang2 de la invención.

La unión específica de un componente de unión a VEGF a su antígeno VEGF, puede determinarse de cualquier manera adecuada conocida per se, incluyendo, por ejemplo, los ensayos descritos en el presente documento, análisis de Scatchard y/o ensayos de unión competitiva, tales como radioinmunoensayos (RIA), inmunoensayos enzimáticos (EIA y ELISA) y ensayos de competición de tipo sándwich, y las diferentes variantes de los mismos conocidas per se en la técnica. Lo mismo ocurre para un componente de unión a Ang2 cuando se une a su antígeno.

Con respecto al antígeno VEGF, un componente de unión a VEGF de la invención, es decir, el dominio variable individual de inmunoglobulina, no está limitado con respecto a la especie. De esta manera, los dominios variables individuales de inmunoglobulina de la invención o preferiblemente se unen a VEGF humano, si están destinados a fines terapéuticos en seres humanos. Sin embargo, también están dentro del alcance de la invención los dominios variables individuales de inmunoglobulina que se unen a VEGF de otra especie de mamífero con tal que caigan bajo las definiciones de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3. Un dominio variable individual de inmunoglobulina que se une a una forma de VEGF de una especie puede presentar reacción cruzada con VEGF, que tiene una secuencia diferente de la humana, de una o más especies distintas. Por ejemplo, los dominios variables individuales de inmunoglobulina que se unen a VEGF humano pueden presentar reactividad cruzada con VEGF de una o más especies distintas de primates y/o con VEGF de una o más especies de animales que se usan en modelos animales para enfermedades, por ejemplo mono, ratón, rata, conejo, cerdo o perro) y, en particular, en modelos animales para enfermedades y trastornos asociados con efectos mediados por VEGF sobre la angiogénesis (tales como las especies y modelos animales mencionados en el presente documento). Los dominios variables individuales de inmunoglobulina que muestran dicha reactividad cruzada son ventajosos en una investigación y/o en el desarrollo de fármacos, ya que permiten ensayar los dominios variables individuales de inmunoglobulina en modelos de enfermedades conocidos tales como monos, en particular *Cynomolgus* o *Rhesus*, o ratones y ratas.

Preferiblemente, en vista de la reactividad cruzada con una o más moléculas de VEGF de especies distintas de ser humano que están destinadas al uso como un modelo animal durante el desarrollo de un antagonista de VEGF terapéutico, un componente de unión a VEGF reconoce un epítipo en una región del VEGF de interés que tiene un alto grado de identidad con VEGF humano.

Un dominio variable individual de inmunoglobulina reconoce un epítipo que se localiza, totalmente o en parte, en una región de VEGF que es relevante para unión a su receptor, en particular a VEGFR-2, que se ha mostrado que es el receptor cuya activación está implicada de forma causativa en la neovascularización de tumores. Los dominios

variables sencillos de inmunoglobulina dados a conocer aquí bloquean la activación del receptor de VEGF, en particular activación de VEGFR-2, al menos parcialmente, o sustancialmente, o totalmente.

Como se ha descrito anteriormente, la capacidad de un componente de unión a VEGF para bloquear la interacción entre VEGF y sus receptores, en particular el VEGFR-2, puede determinarse por un Ensayo Homógeno de Proximidad Luminiscente Amplificado (AlphaScreen®), un ELISA de competición o un ensayo basado en resonancia de plasmón (SPR) (Biacore®), como se describe en los Ejemplos.

Preferiblemente, un dominio variable individual de inmunoglobulina de la invención se une a VEGF con una afinidad menor de 500 nM, preferiblemente menor de 200 nM, más preferiblemente menor de 10 nM, tal como menor de 500 pM (como se determina por análisis de Resonancia de Plasmón Superficial, como se describe en el Ejemplo 5.7). Lo mismo ocurre para un dominio variable individual de inmunoglobulina de la invención que se une a angiopoyetina.

Preferiblemente, los dominios variables individuales de inmunoglobulina de la invención tienen valores de CI_{50} , medidos en un ensayo ELISA de competición como se describe en el Ejemplo 5.1, en el intervalo de 10^{-6} a 10^{-10} moles/litro o menores, más preferiblemente en el intervalo de 10^{-8} a 10^{-10} moles/litro o menores e incluso más preferiblemente en intervalo de 10^{-9} a 10^{-10} moles/litro o menores.

De acuerdo con una realización no limitante pero preferida de la invención, los dominios variables individuales de inmunoglobulina de unión a VEGF de la invención se unen a VEGF con una constante de disociación (K_D) de 10^{-5} a 10^{-12} moles/litro (M) o menor, y preferiblemente de 10^{-7} a 10^{-12} moles/litro (M) o menor y más preferiblemente de 10^{-8} a 10^{-12} moles/litro (M), y/o con una constante de asociación (K_A) de al menos $10^7 M^{-1}$, preferiblemente al menos $10^8 M^{-1}$, más preferiblemente al menos $10^9 M^{-1}$, tal como al menos $10^{12} M^{-1}$; y en particular con una K_D menor de 500 nM, preferiblemente menor de 200 nM, más preferiblemente menor de 10 nM, tal como menor de 500 pM. Los valores de K_D y K_A del dominio variable individual de inmunoglobulina de la invención contra VEGF pueden determinarse. Lo mismo ocurre para un dominio variable individual de inmunoglobulina que se une a Ang2 de la invención.

Los componentes de unión a VEGF biparatópicos que comprenden dos o más dominios variables individuales de inmunoglobulina consisten esencialmente en o comprenden (i) un primer dominio variable individual de inmunoglobulina que se une específicamente a un primer epítipo de VEGF, y (ii) un segundo dominio variable individual de inmunoglobulina que se une específicamente a un segundo epítipo de VEGF donde el primer epítipo de VEGF y el segundo epítipo de VEGF no son epítipos idénticos. En otras palabras, dicho polipéptido de la invención comprende o consiste esencialmente en dos o más dominios variables individuales de inmunoglobulina que están dirigidos contra al menos dos epítipos no solapantes presentes en VEGF, donde dichos dominios variables individuales de inmunoglobulina están unidos entre sí de tal forma que son capaces de unirse simultáneamente a VEGF. En este sentido, el polipéptido de la invención puede considerarse también una construcción de inmunoglobulina "bivalente" o "multivalente" y especialmente como una "construcción de dominio variable individual de inmunoglobulina multivalente", ya que el polipéptido contiene al menos dos sitios de unión para VEGF. Tales construcciones también se denominan moléculas de unión a VEGF "formateado", por ejemplo VHH "formateado"). Lo mismo ocurre para componentes de unión a Ang2 biparatópicos, cambiando lo que deba cambiarse.

Dicho componente de unión a VEGF o Ang2 incluye (al menos) dos dominios variables individuales de inmunoglobulina anti-VEGF o Ang2, respectivamente donde (los) dos dominios variables individuales de inmunoglobulina se dirigen preferiblemente contra epítipos no solapantes dentro de la molécula de VEGF o molécula de angiopoyetina. De esta manera, estos dos dominios variables individuales de inmunoglobulina tendrán una especificidad de antígeno diferente y, por lo tanto, diferentes secuencias de CDR. Por esta razón, dichos polipéptidos de la invención también se denominarán en el presente documento "polipéptidos biparatópicos" o "construcciones de anticuerpo de dominio biparatópico" (si los dominios variables individuales de inmunoglobulina consisten o consisten esencialmente en anticuerpos de dominio) o, "construcciones de VHH biparatópicas" (si los dominios variables individuales de inmunoglobulina consisten o consisten esencialmente en VHH) respectivamente, ya que los dos dominios variables individuales de inmunoglobulina incluirán dos parátomos diferentes.

Si un polipéptido de la invención es una molécula biparatópica como se ha definido en la presente memoria, al menos uno de los componentes de dominio variable individual de inmunoglobulina se une a un epítipo de modo que la interacción entre VEGF humano recombinante y VEGFR-2 humano recombinante se bloquea a una tasa de inhibición de ≥ 80 %. Como se ha mostrado en experimentos de la invención, ciertas moléculas formateadas contienen dos VHH que bloquean ambos el receptor VEGFR-2 a una tasa de inhibición de ≥ 80 %. Ciertos VHH de la invención bloquean el VEGFR-2 a una tasa de inhibición de 100 %, es decir, son bloqueadores completos.

En ambos casos, pueden estar presentes secuencias y restos adicionales dentro de los componentes de unión a VEGF de la invención, por ejemplo en N-terminal, C-terminal o localizados entre los dos dominios variables sencillos de inmunoglobulina, por ejemplo secuencias enlazadoras y secuencias que posibilitan las funciones efectoras, como se expone en más detalle en la presente memoria.

De acuerdo con otra realización, aunque menos preferida, un componente de unión a VEGF puede incluir más de dos dominios variables individuales de inmunoglobulina anti-VEGF, es decir, tres, cuatro o incluso más VHH anti-

VEGF. En este caso al menos dos de los dominios variables individuales de inmunoglobulina anti-VEGF se dirigen contra epítomos no solapantes dentro de la molécula de VEGF, donde cualquier dominio variable individual de inmunoglobulina adicional puede unirse a cualquiera de los dos epítomos no solapantes y/o a un epítomo adicional presente en la molécula de VEGF.

- 5 De acuerdo con la invención, los dos o más dominios variables individuales de inmunoglobulina pueden ser, independientemente entre sí, VHH o anticuerpos de dominio, y/o cualquier otro tipo de dominio variable individual de inmunoglobulina, tal como dominios VL, como se definen en el presente documento, siempre que estos dominios variables individuales de inmunoglobulina se unan al antígeno, es decir, VEGF o angiopoietina, respectivamente, y caen bajo las definiciones de cualquiera de las moléculas 1 a 3.

- 10 La descripción detallada de los componentes de unión se proporciona principalmente por el componente de unión a VEGF. Sin embargo, todas las características y opciones indicadas en el presente documento para el componente de unión a VEGF también se aplican de forma equivalente al componente de unión a Ang2, *mutatis mutandis*.

De acuerdo con realizaciones preferidas, las moléculas de unión presentes en las moléculas de unión biespecíficas (las moléculas de unión a Ang2 dentro del componente de unión a Ang2 o las moléculas de unión a VEGF dentro del componente de unión a VEGF o los dos componentes de unión a Ang2 y VEGF adyacentes) pueden conectarse entre sí directamente (es decir, sin el uso de un enlazador) o a través de un enlazador. El enlazador preferiblemente es un péptido enlazador y se seleccionará de tal forma que permita la unión de las dos moléculas de unión diferentes a cada uno de los epítomos no solapantes de las dianas, dentro de solo una de las moléculas diana, o dentro de dos moléculas diferentes.

- 20 En el caso de moléculas de unión biparatópicas, la selección de enlazadores dentro del componente de unión a Ang2 o VEGF, entre otras cosas, dependerá de los epítomos y, específicamente, de la distancia entre los epítomos en la diana a la que se unen los dominios variables individuales de inmunoglobulina, y será evidente para el experto en la materia basándose en la descripción del presente documento, opcionalmente después de algún grado limitado de experimentación rutinaria.

- 25 Dos moléculas de unión (dos VHH o anticuerpos de dominio o VHH y un anticuerpo de dominio), o dos componentes
de unión, pueden unirse entre sí a través de un VHH o anticuerpo de dominio adicional, respectivamente (en dichas
moléculas de unión, los dos o más dominios variables individuales de inmunoglobulina pueden unirse directamente a
dicho dominio variable individual de inmunoglobulina adicional o a través de enlazadores adecuados). Dicho
anticuerpo de dominio o VHH adicional puede ser, por ejemplo, un anticuerpo de dominio o VHH que proporcione
30 una mayor semividua. Por ejemplo, el último anticuerpo de dominio o VHH puede ser uno que sea capaz de unirse a
una proteína de suero (humano) tal como albúmina sérica (humana) o transferrina (humana).

Como alternativa, los dos o más dominios variables individuales de inmunoglobulina que se unen a la diana respectiva pueden unirse en serie (directamente o a través de un enlazador adecuado) y el anticuerpo de dominio o VHH adicional (que puede proporcionar una mayor semivida) puede conectarse directamente o a través de un enlazador a una de estas dos o más secuencias de inmunoglobulina mencionadas anteriormente.

- Los enlazadores adecuados se describen en el presente documento en relación con polipéptidos específicos de la invención y pueden comprender – por ejemplo y sin limitación – una secuencia de aminoácidos, teniendo dicha secuencia de aminoácidos preferiblemente una longitud de 9 o más aminoácidos, más preferiblemente de al menos 17 aminoácidos, tal como de aproximadamente 20 a 40 aminoácidos. Sin embargo, el límite superior no es crítico, sino que se elige por razones de conveniencia en relación, por ejemplo, con la producción biofarmacéutica de dichos polipéptidos.

La secuencia enlazadora puede ser una secuencia natural o una secuencia no natural. Si se usa para fines terapéuticos, el enlazador preferiblemente es no inmunogénico en el sujeto al que se administra la molécula de unión biespecífica de la invención.

- 45 Un grupo útil de secuencias enlazadoras son enlazadores derivados de la región de bisagra de anticuerpos de cadena pesada como se describen en los documentos WO 1996/34103 y WO 1994/04678.

Otros ejemplos son secuencias enlazadoras de polialanina tales como Ala- Ala-Ala.

Otros ejemplos preferidos de secuencias enlazadoras son enlazadores Gly/Ser de diferente longitud tales como enlazadores (gly_xser_y)_z, incluyendo (gly₄ser)₃, (gly₄ser)₄, (gly₄ser), (gly₃ser), gly₃ y (gly₃ser)₂)₃.

- 50 Algunos ejemplos no limitantes de enlazadores están contenidos en moléculas de unión biespecíficas de la invención mostradas en la Tabla 15 (SEQ ID NO: 128 - 168), por ejemplo, los enlazadores

GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS (35GS; SEQ ID NO: 169);

GGGGSGGGS (9GS; SEQ ID NO: 170):

GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS (40GS; SEQ ID NO: 171).

Además, el enlazador también puede ser un resto de polietilenglicol, como se muestra, por ejemplo, en el documento WO 2004/081026.

En otra realización, los dominios variables individuales de inmunoglobulina están unidos entre sí a través de otro resto (opcionalmente a través de uno o dos enlazadores), tal como otro polipéptido que, en una realización preferida pero no limitante, puede ser un dominio variable individual de inmunoglobulina adicional como se ha descrito anteriormente. Dicho resto puede ser esencialmente inactivo o puede tener un efecto biológico tal como mejorar las propiedades deseadas del polipéptido o puede conferir una o más propiedades deseadas adicionales al polipéptido. Por ejemplo, y sin limitación, el resto puede mejorar la semivida de la proteína o polipéptido, y/o puede reducir su inmunogenicidad o mejorar cualquier otra propiedad deseada.

La molécula de unión biespecífica de la invención incluye un resto que prolonga la semivida del polipéptido de la invención en suero u otro fluido corporal de un paciente. El termino "semivida" se define como el tiempo que transcurre hasta que la concentración en suero del polipéptido (modificado) se reduce en un 50%, *in vivo*, por ejemplo debido a la degradación y/o eliminación y/o secuestro del polipéptido por mecanismos naturales.

Más específicamente, dicho resto que prolonga la semivida se une covalentemente o se fusiona a un dominio variable individual de inmunoglobulina y es un resto de albúmina, a saber, un dominio invariable individual de inmunoglobulina anti-albúmina.

La molécula de unión biespecífica de la invención comprende un resto que se une a un antígeno encontrado en la sangre, es decir albúmina sérica, confiriéndose de esta manera una mayor semivida *in vivo* al polipéptido resultante de la invención. Dicho resto es un dominio variable individual de inmunoglobulina de unión a albúmina tal como un dominio VHH de unión a albúmina.

El dominio variable individual de inmunoglobulina de unión a albúmina se une a albúmina sérica humana y es un dominio VHH de unión a albúmina humanizada.

Los dominios variables individuales de inmunoglobulina que se unen a albúmina sérica humana se conocen en la técnica y se describen adicionalmente con detalle, por ejemplo, en el documento WO 2006/122786. Específicamente, son VHH de unión a albúmina útiles ALB 1 y su homólogo humanizado, ALB 8 (documento WO 2009/095489). Sin embargo, también pueden usarse otros dominios VHH de unión a albúmina mencionados en la publicación de patente anterior, con tal que cumplan la definición proporcionada en las reivindicaciones.

Un dominio VHH de unión a albúmina específicamente útil está indicado en SEQ ID NO: 254.

De acuerdo con otra realización, los dominios variables individuales de inmunoglobulina son anticuerpos de dominio, como se define en el presente documento.

Los dominios variables individuales de inmunoglobulina presentes en las moléculas de unión biespecíficas de la invención también pueden tener secuencias que corresponden a la secuencia de aminoácidos de un dominio VH natural que se ha "camelizado", es decir, reemplazando uno o más restos de aminoácido en la secuencia de aminoácidos de una cadena pesada variable natural de un anticuerpo de 4 cadenas convencional por uno o más restos de aminoácido que aparecen en la posición o posiciones correspondientes en un dominio VHH de un anticuerpo de cadena pesada. Esto puede realizarse de una manera conocida per se, que será evidente para el experto en la materia, y adicionalmente se hace referencia al documento WO1994/04678. Dicha camelización puede realizarse preferiblemente en posiciones de aminoácidos que están presentes en la interfaz VH-VL y en los denominados restos característicos de camélidos (véase también, por ejemplo, el documento WO1994/04678). Puede tomarse una descripción detallada de dichas técnicas de "humanización" y "camelización" y secuencias de región marco preferidas coherentes con ellas, por ejemplo, en la pág. 46 y en la pág. 98 del documento WO2006/040153 y en la pág. 107 del documento WO2006/122786.

Los componentes de unión tienen especificidad por Ang2 o VEGF, respectivamente, ya que comprenden, en una realización preferida, uno o más dominios variables individuales de inmunoglobulina que se unen específicamente a uno o más epítomos dentro de la molécula de Ang2 o dentro de la molécula de VEGF, respectivamente.

La unión específica de un componente de unión a su antígeno Ang2 o VEGF puede determinarse de cualquier manera adecuada conocida *per se*, incluyendo, por ejemplo, los ensayos descritos en el presente documento, el análisis de Scatchard y/o ensayos de unión competitiva, tales como radioinmunoensayos (RIA), inmunoensayos enzimáticos (EIA y ELISA) y ensayos de competición de tipo sándwich, y las diferentes variantes de los mismos conocidas per se en la técnica.

Con respecto al antígeno Ang2 o VEGF, respectivamente, un dominio variable individual de inmunoglobulina no está limitado con respecto a la especie. De esta manera, los dominios variables individuales de inmunoglobulina preferiblemente se unen a Ang2 humano o a VEGF humano, respectivamente, si están destinados a fines terapéuticos en seres humanos. Sin embargo, también están dentro del alcance de la invención los dominios variables individuales de inmunoglobulina que se unen a Ang2 o VEGF, respectivamente, de otras especies de

mamífero, o polipéptidos que los contienen en la medida en la que están cubiertos por la definición de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

Un dominio variable individual de inmunoglobulina que se une a una forma de especie de Ang2 o VEGF puede presentar reacción cruzada con el antígeno respectivo de una o más especies distintas. Por ejemplo, los dominios variables individuales de inmunoglobulina que se unen al antígeno humano pueden presentar reactividad cruzada con el antígeno respectivo de una o más especies distintas de primate y/o con el antígeno de una o más especies de animales que se usan en modelos animales para enfermedades, por ejemplo mono (en particular cynomolgus o Rhesus), ratón, rata, conejo, cerdo o perro) y, en particular, en modelos animales para enfermedades y trastornos que pueden modularse mediante la inhibición de Ang2 (tales como las especies y modelos animales mencionados en el presente documento). Los dominios variables individuales de inmunoglobulina de la invención que muestran dicha reactividad cruzada son ventajosos en investigación y/o en el desarrollo de fármacos, ya que permite ensayar los dominios variables individuales de inmunoglobulina de la invención en modelos y enfermedades conocidos tales como monos, en particular cynomolgus o Rhesus, o ratones y ratas.

Además, los componentes de unión no están limitados o definidos por un dominio específico o un determinante antigénico del antígeno contra el cual están dirigidos. Preferiblemente, en vista de la reactividad cruzada con una o más moléculas de antígeno de especies distintas del ser humano que se pretenden usar como modelo animal durante el desarrollo de un antagonista terapéutico de Ang2/VEGF, un componente de unión reconoce un epítipo en una región del antígeno respectivo que tiene un alto grado de identidad con el antígeno humano. A modo de ejemplo, en vista del uso de un modelo de ratón, un dominio variable individual de inmunoglobulina anti-Ang2 contenido en las moléculas de unión biespecíficas de la invención reconoce un epítipo que está localizado, totalmente o en parte, dentro del dominio de FLD de Ang2, que muestra una alta identidad entre el ser humano y el ratón.

El componente de unión a VEGF se une a las isoformas de VEGF VEGF165 y/o VEGF 121.

En otro aspecto, la invención se refiere a moléculas de ácido nucleico que codifican moléculas de unión biespecíficas de la invención. Dichas moléculas de ácido nucleico también se denominarán en el presente documento "ácidos nucleicos de la invención" y también pueden estar en forma de una construcción genética, como se define en el presente documento. Un ácido nucleico de la invención puede ser ADN genómico, ADNc o ADN sintético (tal como ADN con un uso de codones que se ha adaptado específicamente para la expresión en la célula hospedadora u organismo hospedador deseado). De acuerdo con una realización de la invención, el ácido nucleico de la invención está en forma esencialmente aislada, como se ha definido anteriormente en el presente documento.

El ácido nucleico de la invención también puede estar en forma de, puede estar presente en y/o puede ser parte de un vector, tal como, por ejemplo, un plásmido, cósmido o YAC. El vector puede ser, especialmente, un vector de expresión, es decir un vector que puede permitir la expresión de la molécula de unión biespecífica *in vitro* y/o *in vivo* (es decir, en una célula hospedadora, organismo hospedador y/o sistema de expresión adecuado). Dicho vector de expresión generalmente comprende al menos un ácido nucleico de la invención que está unido operativamente a uno o más elementos reguladores adecuados, tales como uno o más promotores, potenciadores, terminadores y similares. Dichos elementos y su selección en vista de la expresión de una secuencia específica en un hospedador específico son del conocimiento común del experto en la materia. Se describen ejemplos específicos de elementos reguladores y otros elementos útiles o necesarios para expresar moléculas de unión biespecíficas de la invención, tales como promotores, potenciadores, terminadores, factores de integración, marcadores de selección, secuencias líder, genes indicadores y similares, por ejemplo, en las págs. 131 a 133 del documento WO 2006/040153.

Los ácidos nucleicos de la invención pueden prepararse u obtenerse de una manera conocida *per se* (por ejemplo, por síntesis de ADN automática y/o tecnología de ADN recombinante), basándose en la información de las secuencias de aminoácidos de los polipéptidos de la invención proporcionada en el presente documento, y/o pueden aislarse a partir de una fuente natural adecuada.

En otro aspecto, la invención se refiere a células hospedadoras que expresan o que son capaces de expresar una o más moléculas de unión biespecíficas de la invención; y/o que contienen un ácido nucleico de la invención. De acuerdo con una realización particularmente preferida, dichas células hospedadoras son células bacterianas; otras células útiles son células de levadura, células fúngicas o células del mamífero.

Las células bacterianas adecuadas incluyen células de cepas bacterianas gram-negativas tales como cepas de *Escherichia coli*, *Proteus*, y *Pseudomonas*, y cepas bacterianas gram-positivas tales como cepas de *Bacillus*, *Streptomyces*, *Staphylococcus*, y *Lactococcus*. La célula fúngica adecuada incluye células de especies de *Trichoderma*, *Neurospora*, y *Aspergillus*. Las células de levadura adecuadas incluyen células de especies de *Saccharomyces* (por ejemplo *Saccharomyces cerevisiae*), *Schizosaccharomyces* (por ejemplo *Schizosaccharomyces pombe*), *Pichia* (por ejemplo *Pichia pastoris* y *Pichia methanolica*), y *Hansenula*.

Las células de mamífero adecuadas incluyen, por ejemplo, células CHO, células BHK, células HeLa, células COS y similares. Sin embargo, también pueden usarse células de anfibio, células de insecto, células vegetales, y cualquier otra célula usada en la técnica para la expresión de proteínas heterólogas.

La invención proporciona además métodos para fabricar una molécula de unión biespecífica de la invención, comprendiendo dichos métodos generalmente las etapas de:

- cultivar células hospedadoras que comprenden un ácido nucleico capaz de codificar una molécula de unión biespecífica en condiciones que permiten la expresión de la molécula de unión biespecífica de la invención; y
- 5 • recuperar o aislar el polipéptido expresado por las células hospedadoras a partir del cultivo; y
- opcionalmente purificar adicionalmente y/o modificar y/o formular la molécula de unión biespecífica de la invención.

10 Para la producción a escala industrial, los organismos hospedadores preferidos incluyen cepas de *E. coli*, *Pichia pastoris*, y *S. cerevisiae*, que son adecuadas para la expresión, producción y fermentación a gran escala y, en particular, para la expresión, producción y fermentación farmacéutica a gran escala.

15 La elección del sistema de expresión específico depende, en parte, de la necesidad de ciertas modificaciones postraduccionales, más específicamente glucosilación. La producción de una molécula de unión biespecífica de la invención para la que se desea o requiere glucosilación necesitaría el uso de hospedadores de expresión de mamífero que tuvieran la capacidad de glucosilar la proteína expresada. A este respecto, será evidente para el experto en la materia que el patrón de glucosilación obtenido (es decir, el tipo, número y posición de restos unidos) dependerá de la célula o línea celular que se usa para la expresión.

20 Las moléculas de unión biespecíficas de la invención pueden producirse en una célula como se ha indicado anteriormente intracelularmente (por ejemplo en el citosol, en el periplasma o en cuerpos de inclusión) y después aislarse a partir de las células hospedadoras y opcionalmente purificarse adicionalmente; o pueden producirse extracelularmente (por ejemplo, en el medio en el que se cultivan las células hospedadoras) y después aislarse a partir del medio de cultivo y opcionalmente purificarse adicionalmente.

25 En la técnica se conocen métodos y reactivos usados para la producción recombinante de polipéptidos, tales como vectores de expresión adecuados específicos, métodos de transformación o transfección, marcadores de selección, métodos de inducción de la expresión de proteínas, condiciones de cultivo y similares. De forma similar, son bien conocidas para el experto en la materia técnicas de aislamiento y purificación de proteínas útiles en un método de fabricación de un polipéptido de la invención.

La invención se refiere además a un producto o composición que contiene o comprende al menos una molécula de unión biespecífica de la invención y, opcionalmente, uno o más componentes adicionales de dichas composiciones conocidas *per se*, es decir, dependiendo del uso deseado de la composición.

30 Para uso farmacéutico, una molécula de unión biespecífica de la invención puede formularse como una preparación o composición farmacéutica que comprende al menos una molécula de unión biespecífica de la invención y al menos un vehículo, diluyente o excipiente y/o adyuvante farmacéuticamente aceptable, y opcionalmente uno o más polipéptidos y/o compuestos farmacéuticamente activos adicionales. Por medio de ejemplos no limitantes, dicha formulación puede estar en una forma adecuada para administración oral, para administración parenteral (tal como por inyección intravenosa, intramuscular o subcutánea o infusión intravenosa), para administración tópica, para administración por inhalación, por medio de un parche cutáneo, por un implante, por un supositorio, etc. Dichas formas de administración adecuadas – que pueden ser sólidas, semisólidas o líquidas, dependiendo de la forma de administración – así como los métodos y vehículos para uso en su preparación, serán evidentes para el experto en la materia y se describen adicionalmente en el presente documento.

40 De esta manera, en un aspecto adicional, la invención se refiere a una composición farmacéutica que contiene al menos una molécula de unión biespecífica, en particular un dominio variable individual de inmunoglobulina de la invención y al menos un vehículo, diluyente o excipiente adecuado (es decir, adecuado para uso farmacéutico) y, opcionalmente, una o más sustancias activas adicionales.

45 Las moléculas de unión biespecíficas de la invención pueden formularse y administrarse de cualquier manera adecuada conocida *per se*: se hace referencia, por ejemplo, en particular para los dominios variables individuales de inmunoglobulina, a los documentos WO 2004/041862, WO 2004/041863, WO 2004/041865, WO 2004/041867 y WO 2008/020079, así como a manuales convencionales, tales como Remington's Pharmaceutical Sciences, 18ª Ed., Mack Publishing Company, Estados Unidos (1990), Remington, the Science and Practice of Pharmacy, 21ª Edición, Lippincott Williams and Wilkins (2005); o el Handbook of Therapeutic Antibodies (S. Dubel, Ed.), Wiley, Weinheim, 2007 (véanse, por ejemplo, las páginas 252-255).

50 Por ejemplo, una molécula de unión de la invención puede formularse y administrarse de cualquier manera conocida *per se* para anticuerpos convencionales y fragmentos de anticuerpo (incluyendo ScFv y diacuerpos), y otras proteínas farmacéuticamente activas. Dichas formulaciones y métodos para prepararlas serán evidentes para el experto en la materia, e incluyen, por ejemplo, preparaciones adecuadas para administración parenteral (por ejemplo administración intravenosa, intraperitoneal, subcutánea, intramuscular, intraluminal, intraarterial o intratecal), o para administración tópica (es decir transdérmica o intradérmica).

Las preparaciones para administración parenteral pueden ser, por ejemplo, soluciones, suspensiones, dispersiones o emulsiones estériles que son adecuadas para infusión o inyección. Los vehículos o diluyentes adecuados para dichas preparaciones incluyen, por ejemplo, sin limitación, agua estéril y tampones y soluciones acuosas farmacéuticamente aceptables tales como solución salina fisiológica tamponada con fosfato, soluciones de Ringer, solución de dextrosa y solución de Hank; agua, aceites; glicerol; etanol, glicoles tales como propilenglicol o también aceites minerales, aceites animales y aceites vegetales, por ejemplo aceite de cacahuete, aceite de soja así como mezclas adecuadas de los mismos. Normalmente, se preferirán soluciones o suspensiones acuosas.

De esta manera, la molécula de unión biespecífica de la invención puede administrarse sistémicamente, por ejemplo, por vía oral, en combinación con un vehículo farmacéuticamente aceptable tal como un diluyente inerte o un vehículo comestible asimilable. Para administración terapéutica oral, la molécula de unión biespecífica de la invención puede combinarse con uno o más excipientes y usarse en forma de comprimidos que se pueden ingerir, comprimidos bucales, trociscos, cápsulas, elixires, suspensiones, jarabes, obleas y similares. Dichas composiciones y preparaciones deben contener al menos 0,1% de la molécula de unión de la invención. Su porcentaje en las composiciones y preparaciones, por supuesto, puede variar y, convenientemente, puede estar comprendido entre aproximadamente 2 y aproximadamente 60% del peso de una forma de dosificación unitaria dada. La cantidad de la molécula de unión biespecífica de la invención en dichas composiciones terapéuticamente útiles será tal que se obtenga un nivel de dosificación eficaz.

Los comprimidos, píldoras, cápsulas y similares también pueden contener aglutinantes, excipientes, agentes disgregantes, lubricantes, y agentes edulcorantes o saporíferos, por ejemplo, los mencionados en las páginas 143-144 del documento WO2008/020079. Cuando la forma de dosificación unitaria es una cápsula, puede contener, además de materiales del tipo anterior, un vehículo líquido, tal como un aceite vegetal o un polietilenglicol. Pueden estar presentes diversos materiales distintos como recubrimientos o para modificar de otra manera la forma física de la forma de dosificación unitaria sólida. Por ejemplo, los comprimidos, píldoras o cápsulas pueden recubrirse con gelatina, cera, goma laca o azúcar y similares. Un jarabe o elixir puede contener las moléculas de unión de la invención, sacarosa o fructosa como agente edulcorante, metil y propilparabenos como conservantes, un colorante y saporífero tal como aroma de cereza o naranja. Por supuesto, cualquier material usado en la preparación de cualquier forma de dosificación unitaria debe ser farmacéuticamente aceptable y sustancialmente no tóxico en las cantidades empleadas. Además, las moléculas de unión biespecíficas de la invención pueden incorporarse en preparaciones y dispositivos de liberación sostenida.

Las preparaciones y formulaciones para administración oral también pueden proporcionarse con un recubrimiento entérico que permita que las construcciones de la invención resistan el entorno gástrico y pasen al intestino. Más generalmente, pueden formularse convenientemente preparaciones y formulaciones para administración oral para su liberación en cualquier parte deseada del tracto gastrointestinal. Además, puede usarse supositorios adecuados para administración en el tracto gastrointestinal.

Las moléculas de unión biespecíficas de la invención también pueden administrarse por vía intravenosa o intraperitoneal por infusión o inyección, como se describe adicionalmente en las páginas 144 y 145 del documento WO 2008/020079.

Para administración tópica de las moléculas de unión biespecíficas de la invención, generalmente será deseable administrarlas en la piel como composiciones o formulaciones, en combinación con un vehículo dermatológicamente aceptable, que puede ser un sólido o un líquido, como se describe adicionalmente en la página 145 del documento WO 2008/020079.

En general, la concentración de las moléculas de unión biespecíficas de la invención en una composición líquida, tal como una loción, será de aproximadamente 0,1-25% en peso, preferiblemente de aproximadamente 0,5-10% en peso. La concentración en una composición semisólida o sólida tal como un gel o un polvo será de aproximadamente 0,1-5% en peso, preferiblemente de aproximadamente 0,5-2,5% en peso.

La cantidad de las moléculas de unión biespecíficas de la invención necesaria para uso en el tratamiento variará no sólo con la molécula de unión particular seleccionada, sino también con la vía de administración, la naturaleza de la afección a tratar y la edad y estado del paciente, y finalmente estará a la discreción del médico o especialista clínico a cargo del caso. Además, la dosificación de las moléculas de unión de la invención varía dependiendo de la célula, tumor, tejido, injerto u órgano diana.

La dosis deseada puede presentarse convenientemente en una sola dosis o como dosis divididas administradas a intervalos apropiados, por ejemplo, como dos, tres, cuatro o más subdosis al día. La propia subdosis puede dividirse adicionalmente, por ejemplo, en varias administraciones discretas espaciadas ligeramente; tales como múltiples inhalaciones desde un insuflador o por aplicación de una pluralidad de gotas en el ojo.

Un régimen de administración puede incluir el tratamiento diario a largo plazo. Por "largo plazo" se entiende al menos dos semanas y, preferiblemente, varias semanas, meses o años de duración. Las modificaciones necesarias en este intervalo de dosificación pueden determinarse por un experto en la materia usando únicamente la experimentación rutinaria dadas las enseñanzas del presente documento. Véase Remington's Pharmaceutical

Sciences (Martin, E. W., ed. 4), Mack Publishing Co., Easton, PA. La dosificación también puede ajustarse por el médico individual en caso de cualquier complicación.

De acuerdo con una realización adicional, la invención se refiere al uso de moléculas de unión biespecíficas, por ejemplo, dominios variables individuales de inmunoglobulina, para fines terapéuticos, tales como

- 5 • para la prevención, tratamiento y/o alivio de un trastorno, enfermedad o afección, especialmente en un ser humano, que está asociada con efectos mediados por VEGF y/o Ang2 sobre la angiogénesis o que puede prevenirse, tratarse o aliviarse mediante la modulación de la ruta de señalización Notch y/o la ruta de señalización Tie2 con una molécula de unión biespecífica de acuerdo con la invención,
- 10 • en un método de tratamiento de un paciente que necesita dicha terapia, comprendiendo dicho método administrar, a un sujeto que lo necesita, una cantidad farmacéuticamente activa de al menos una molécula de unión biespecífica de la invención, por ejemplo, un dominio variable individual de inmunoglobulina, o una composición farmacéutica que lo contiene;
- para la preparación de un medicamento para la prevención, tratamiento o alivio de trastornos, enfermedades o afecciones asociadas con efectos mediados por VEGF y/o Ang2 sobre la angiogénesis;
- 15 • como un ingrediente activo en una composición farmacéutica o medicamento usado para los fines anteriores.

De acuerdo con un aspecto específico, dicho trastorno, enfermedad o afección es un cáncer o enfermedad cancerosa, como se define en el presente documento.

De acuerdo con otro aspecto, la enfermedad es una enfermedad ocular asociada con efectos mediados por VEGF y/o Ang2 sobre la angiogénesis o que puede tratarse o aliviarse mediante la modulación de la ruta de señalización Notch con una molécula de unión biespecífica.

Dependiendo de la enfermedad cancerosa a tratar, una molécula de unión biespecífica de la invención puede usarse por sí misma o en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, en particular seleccionados entre agentes quimioterapéuticos tales como agentes que dañan el ADN o compuestos terapéuticamente activos que inhiben la angiogénesis, rutas de transducción de señales o puntos de control mitótico en células cancerosas.

25 El agente terapéutico adicional puede administrarse simultáneamente con, opcionalmente como un componente de la misma preparación farmacéutica, o antes o después de la administración de la molécula de unión.

En ciertas realizaciones, el agente terapéutico adicional puede ser, sin limitación (y en el caso de los receptores, incluyendo los ligandos respectivos), uno o más inhibidores seleccionados entre el grupo de inhibidores de EGFR, VEGFR, HER2-neu, Her3, AuroraA, AuroraB, PLK y PI3 quinasa, FGFR, PDGFR, Raf, Ras, KSP, PDK1, PTK2, IGF-R o IR.

Otros ejemplos de agentes terapéuticos adicionales son inhibidores de CDK, Akt, src/bcr abl, cKit, cMet/HGF, c-Myc, Flt3, HSP90, antagonistas de hedgehog, inhibidores de JAK/STAT, MEK, mTor, NFkappaB, el proteasoma, Rho, un inhibidor de la señalización de wnt o un inhibidor de la ruta de ubiquitinación u otro inhibidor de la ruta de señalización Notch.

35 Son ejemplos de inhibidores de Aurora, sin limitación, PHA-739358, AZD-1152, AT 9283, CYC-116, R-763, VX-680, VX-667, MLN-8045, PF-3814735.

Un ejemplo de un inhibidor de PLK es GSK-461364.

Son ejemplos de inhibidores de raf BAY-73-4506 (también un inhibidor de VEGFR), PLX 4032, RAF-265 (también además un inhibidor de VEGFR), sorafenib (también además un inhibidor de VEGFR) y XL 281.

40 Son ejemplos de inhibidores de KSP ispinesib, ARRY-520, AZD-4877, CK-1122697, GSK 246053A, GSK-923295, MK-0731 y SB-743921.

Son ejemplos de inhibidores de src y/o bcr-abl dasatinib, AZD-0530, bosutinib, XL 228 (también un inhibidor de IGF-1R), nilotinib (también un inhibidor de PDGFR y cKit), imatinib (también un inhibidor de cKit) y NS-187.

Un ejemplo de un inhibidor de PDK1 es BX-517.

45 Un ejemplo de un inhibidor de Rho es BA-210.

Son ejemplos de inhibidores de la PI3 quinasa PX-866, BEZ-235 (también un inhibidor de mTor), XL 418 (también un inhibidor de Akt), XL-147 y XL 765 (también un inhibidor de mTor).

Son ejemplos de inhibidores de cMet o HGF XL-184 (también un inhibidor de VEGFR, cKit, Flt3), PF-2341066, MK-2461, XL-880 (también un inhibidor de VEGFR), MGCD-265 (también un inhibidor de VEGFR, Ron, Tie2), SU-11274, PHA-665752, AMG-102 y AV-299.

Un ejemplo de un inhibidor de c-Myc es CX-3543.

- 5 Son ejemplos de inhibidores de Flt3 AC-220 (también un inhibidor de cKit y PDGFR), KW 2449, lestaurtinib (también un inhibidor de VEGFR, PDGFR, PKC), TG-101348 (también un inhibidor de JAK2), XL-999 (también un inhibidor de cKit, FGFR, PDGFR y VEGFR), sunitinib (también un inhibidor de PDGFR, VEGFR y cKit), y tandutinib (también un inhibidor de PDGFR, and cKit).

Son ejemplos de inhibidores de HSP90 tanespimicina, alvespimicina, IPI-504 y CNF 2024.

- 10 Son ejemplos de inhibidores de JAK/STAT CYT-997 (que también interacciona con tubulina), TG 101348 (también un inhibidor de Flt3), y XL-019.

Son ejemplos de inhibidores de MEK ARRY-142886, PD-325901, AZD-8330, y XL 518.

- 15 Son ejemplos de inhibidores de mTor temsirolimus, AP-23573 (que también actúa como inhibidor de VEGF), everolimus (además un inhibidor de VEGF), XL-765 (también un inhibidor PI3 quinasa) y BEZ-235 (también un inhibidor de PI3 quinasa).

Son ejemplos de inhibidores de Akt perifosina, GSK-690693, RX-0201 y tricitiribina.

- 20 Son ejemplos de inhibidores de cKit AB-1010, OSI-930 (también actúa como un inhibidor de VEGFR), AC-220 (también un inhibidor de Flt3 y PDGFR), tandutinib (también un inhibidor de Flt3 y PDGFR), axitinib (también un inhibidor de VEGFR y PDGFR), XL-999 (también un inhibidor de Flt3, PDGFR, VEGFR, FGFR), sunitinib (también un inhibidor de Flt3, PDGFR, VEGFR), y XL-820 (también actúa como un inhibidor de VEGFR- y PDGFR), imatinib (también un inhibidor de bcr-abl), nilotinib (también un inhibidor de bcr-abl y PDGFR).

Son ejemplos de antagonistas de hedgehog IPI-609 y CUR-61414.

Son ejemplos de inhibidores de CDK seliciclib, AT-7519, P-276, ZK-CDK (que también inhibe VEGFR2 y PDGFR), PD-332991, R-547, SNS-032, PHA-690509 y AG 024322.

- 25 Son ejemplos de inhibidores de proteasoma bortezomib, carfilzomib, y NPI-0052 (también un inhibidor de NFkappaB).

Un ejemplo de un inhibidor de la ruta de NFkappaB es NPI-0052.

Un ejemplo de un inhibidor de la ruta de ubiquitinación es HBX-41108.

En realizaciones preferidas, el agente terapéutico adicional es un agente antiangiogénico.

- 30 Son ejemplo de agentes antiangiogénicos inhibidores de FGFR, PDGFR y VEGFR o los ligandos respectivos (por ejemplo, inhibidores de VEGF tales como pegaptanib o el anticuerpo anti-VEGF bevacizumab), inhibidores de EGFL7, tales como mAb anti EGFL7, inhibidores angiopoyetina 1/2 tales como AMG386 y talidomidas, seleccionándose dichos agentes entre, sin limitación, bevacizumab, motesanib, CDP-791, SU-14813, telatinib, KR-951, ZK-CDK (también un inhibidor de CDK), ABT-869, BMS-690514, RAF-265, IMC-KDR, IMC-18F1, IMiD (fármacos inmunomoduladores), el derivado de talidomida CC-4047, lenalidomida, ENMD 0995, IMC-D11, Ki 23057, brivanib, cediranib, XL-999 (también un inhibidor de cKit y Flt3), 1B3, CP 868596, IMC 3G3, R-1530 (también un inhibidor de Flt3), sunitinib (también un inhibidor de cKit y Flt3), axitinib (también un inhibidor de cKit), lestaurtinib (también un inhibidor de Flt3 y PKC), vatalanib, tandutinib (también un inhibidor de Flt3 y cKit), pazopanib, GW 786034, PF-337210, IMC-1121B, AVE-0005, AG-13736, E-7080, CHIR 258, tosilato de sorafenib (también un inhibidor de Raf), RAF-265 (también un inhibidor de Raf), vandetanib, CP-547632, OSI-930, AEE-788 (también un inhibidor de EGFR y Her2), BAY-57-9352 (también un inhibidor de Raf), BAY-73-4506 (también un inhibidor de Raf), XL 880 (también un inhibidor de cMet), XL-647 (también un inhibidor de EGFR y EphB4), XL 820 (también un inhibidor de cKit), y nilotinib (también un inhibidor de cKit y bcr-abl).

- 45 El agente terapéutico adicional también puede seleccionarse entre inhibidores de EGFR, puede ser un inhibidor de EGFR de molécula pequeña o un anticuerpo anti-EGFR. Son ejemplos de anticuerpos anti-EGFR, sin limitación, cetuximab, panitumumab, matuzumab; un ejemplo de un inhibidor de EGFR de molécula pequeña es gefitinib. Otro ejemplo de un modulador de EGFR es la toxina de fusión de EGF.

- 50 Entre los inhibidores de EGFR y Her2 útiles para combinación con la molécula de unión biespecífica de la invención se encuentran lapatinib, gefitinib, erlotinib, cetuximab, trastuzumab, nimotuzumab, zalutumumab, vandetanib (también un inhibidor de VEGFR), pertuzumab, XL-647, HKI-272, BMS-599626 ARRY-334543, AV 412, mAB-806, BMS-690514, JNJ-26483327, AEE-788 (también un inhibidor de VEGFR), ARRY-333786, IMC-11F8, Zemab.

Otros agentes que pueden combinarse ventajosamente en una terapia con la molécula de unión biespecífica de la invención son tositumumab y ibritumomab tiuxetan (dos anticuerpos anti-CD20 radiomarcados), alemtuzumab (un anticuerpo anti-CD52), denosumab (un inhibidor del ligando del factor de diferenciación de osteoclastos), galiximab (un antagonista de CD80), ofatumumab (un inhibidor de CD20), zanolimumab (un antagonista de CD4), SGN40 (un modulador del receptor del ligando de CD40), rituximab (un inhibidor de CD20), mapatumumab (un agonista del receptor TRAIL-1), REGN421 (SAR153192) o OMP-21M18 (inhibidores de DII4).

Otros fármacos quimioterapéuticos que pueden usarse en combinación con la molécula de unión biespecífica de la presente invención se seleccionan entre, pero sin limitación, hormonas, análogos hormonales y antihormonales (por ejemplo tamoxifeno, toremifeno, raloxifeno, fulvestrant, acetato de megestrol, flutamida, nilutamida, bicalutamida, acetato de ciproterona, finasterida, acetato de buserelina, fludrocortisona, fluoximesterona, medroxiprogesterona, octreótido, arzoxifeno, pasireótido, vapreótido), inhibidores de aromatasa (por ejemplo, anastrozol, letrozol, liarozol, exemestano, atamestano, formestano), agonistas y antagonistas de LHRH (por ejemplo, acetato de goserelina, leuprolida, abarelix, cetrorelix, desloreline, histrelina, triptorelina), antimetabolitos (por ejemplo, antifolatos tales como metotrexato, pemetrexed, análogos de pirimidina tales como 5 fluorouracilo, capecitabina, decitabina, nelarabina y gemcitabina, análogos de purina y adenosina tales como mercaptopurina tioguanina, cladribina y pentostatina, citarabina, fludarabina); antibióticos antitumorales (por ejemplo, antraciclinas tales como doxorubicina, daunorubicina, epirubicina e idarubicina, mitomicina-C, bleomicina dactinomicina, plicamicina, mitoxantrona, pixantrona, estreptozocina); derivados de platino (por ejemplo, cisplatino, oxaliplatino, carboplatino, lobaplatin, satraplatino); agente alquilantes (por ejemplo, estramustina, mecloretamina, melfalán, clorambucilo, busulfán, dacarbacina, ciclofosfamida, ifosfamida, hidroxiaurea, temozolomida, nitrosoureas tales como carmustina y lomustina, tiotepa); agentes antimetabólicos (por ejemplo, alcaloides de la vinca tales como vinblastina, vindesina, vinorelbina, vinflunina y vincristina; y taxanos tales como paclitaxel, docetaxel y sus formulaciones, larotaxel; simotaxel y epotilonas tales como ixabepilona, patupilona, ZK-EPO); inhibidores de topoisomerasa (por ejemplo, epipodofilotoxinas tales como etopósido y etopofos, tenipósido, amsacrina, topotecan, irinotecan) y diversos agentes quimioterapéuticos tales como amifostina, anagrelida, interferón alfa, procarbazona, mitotano y porfímero, bexaroteno, celecoxib.

La eficacia de la molécula de unión biespecífica de la invención o polipéptidos, y de las composiciones que las comprenden, puede ensayarse usando cualquier ensayo *in vitro*, ensayo basado en células, ensayo *in vivo* y/o modelo animal adecuado conocido per se, o cualquier combinación de los mismos, dependiendo de la enfermedad o trastorno específico de interés. Los ensayos y modelos animales adecuados serán evidentes para el experto en la materia y, por ejemplo, incluyen los ensayos descritos en el presente documento y usados en los ejemplos proporcionados a continuación, por ejemplo, un ensayo de proliferación.

Los datos obtenidos en los experimentos de la invención confirman que las moléculas de unión biespecíficas de la invención tienen propiedades que son superiores a las de las moléculas de unión de la técnica anterior. Entre tales propiedades están inhibición completa de la interacción VEGF165-VEGFR2 y una CI₅₀ baja, como puede extraerse, por ejemplo, de los datos del ELISA de la Figura 1 y tabla 5, así como los valores de CI₅₀ (nM) para VHH en el ensayo AlphaScreen como se muestra en las Figuras 3, 17, 18 y Tabla 7; y la K_D de afinidad (nM) de VHH purificados sobre VEGF humano recombinante y VEGF de ratón en la Tabla 9, 10 y Figura 5. Además, como se muestra en la Tabla 13, los agentes de unión a VEGF de la invención tienen alta potencia, es decir, en el intervalo subnanomolar, en el ensayo de proliferación de HUVEC. Esto indica que las moléculas de unión biespecíficas de la invención son candidatos prometedores para tener eficacia terapéutica en enfermedades y trastornos asociados con los efectos mediados por VEGF sobre la angiogénesis, tales como el cáncer.

Breve descripción de las Figuras:

Figura 1: Los VHH monovalentes purificados bloquean la interacción hVEGF165/hVEGFR2-Fc (ELISA)

Figura 2: Los VHH monovalentes purificados bloquean la interacción hVEGF165/hVEGFR1-Fc (ELISA)

Figura 3: Los VHH monovalentes purificados bloquean la interacción hVEGF165/hVEGFR2-Fc (AlphaScreen)

Figura 4: Los VHH monovalentes purificados bloquean la interacción hVEGF165/hVEGFR1-Fc (AlphaScreen)

Figura 5: Unión de VHH monovalentes con VEGF de ratón y humano recombinante (ELISA)

Figura 6: Unión de VHH monovalentes con VEGF121 humano

Figura 7: Los VHH purificados no se unen a VEGFB, VEGFC, VEGFD y PIGF

Figura 8: Los VHH formateados bloquean la interacción hVEGF165/hVEGFR2-Fc (ELISA)

Figura 9: Los VHH formateados bloquean la interacción hVEGF165/hVEGFR1-Fc (ELISA)

	Figura 10:	Los VHH formateados bloquean la interacción hVEGF165/hVEGFR2-Fc (AlphaScreen)
	Figura 11:	Los VHH formateados bloquean la interacción hVEGF165/hVEGFR1-Fc (AlphaScreen)
	Figura 12:	Los VHH formateados bloquean la interacción mVEGF164/mVEGFR2-Fc (AlphaScreen)
	Figura 13:	Los VHH formateados se unen a VEGF humano y de ratón
5	Figura 14:	Los VHH formateados no se unen a VEGFB, VEGFC, VEGFD y PIGF
	Figura 15:	Los VHH formateados se unen a VEGF121
	Figura 16:	Alineamiento de secuencias de VHH VEGFBII23B04 con secuencia consenso de línea germinal de VH3/JH humano
10	Figura 17:	Variantes de VHH de VEGFBII23B04 bloquean la interacción hVEGF165/hVEGFR2-Fc (AlphaScreen)
	Figura 18:	Los clones de secuencia optimizada de VEGFBII23B04 bloquean la interacción hVEGF165/hVEGFR2-Fc (AlphaScreen)
	Figura 19:	Alineamiento de secuencias de VHH VEGFBII5B05 con secuencia consenso de línea germinal de VH3/JH humana
15	Figura 20:	Descripción de VHH de Ang2 bivalentes
	Figura 21:	VHH de Ang2 bivalentes purificados que bloquean la interacción de hAng2-hTie2 (25-1), mAng2-mTie2 (25-2) y cAng2-cTie2 (25-3) (ELISA)
	Figura 22:	Los VHH de Ang2 bivalentes purificados que bloquean la interacción hAng1-hTie2 (ELISA)
	Figura 23:	Descripción de VHH biespecífico de VEGFxAng2 trivalentes
20	Figura 24:	Nanobodies VEGFxAng2 trivalentes purificados que bloquean interacción hVEGF-hVEGFR2 (AlphaScreen)
	Figura 25:	VHH de VEGFxAng2 trivalentes purificados que bloquean la interacción hAng2-hTie2 (ELISA)
	Figura 26:	Descripción de VHH biespecíficos de VEGFxAng2 tetravalentes y trivalentes
25	Figura 27:	VHH de VEGFxAng2 trivalentes y tetravalentes purificados que bloquean la interacción VEGF-hVEGFR2 (31-1) y hVEGF-hVEGFR1 (31-2) (AlphaScreen)
	Figura 28:	VHH de VEGFxAng2 trivalentes y tetravalentes purificados que bloquean la interacción hAng2-hTie2 (32-1), mAng2-mTie2 (32-2) y cAng2-cTie2 (32-3) (ELISA)
	Figura 29:	VHH de VEGFxAng2 trivalentes y tetravalentes purificados que bloquean la supervivencia de HUVEC mediada por hAng2.
30	Figura 30:	Descripción de VHH biespecíficos de VEGFxAng2 de afinidad y de secuencia optimizada
	Figura 31:	VHH de VEGFxAng2 VEGFANGBII00022-25-28 purificados que bloquean la interacción hVEGF-hVEGFR2 (35-1) y hVEGF-hVEGFR1 (35-2) (AlphaScreen)
	Figura 32:	VHH de VEGFxAng2 VEGFANGBII00022-25-28 purificados que se unen a VEGF165 (36-1) humano y hVEGF121 (36-2) (ELISA)
35	Figura 33:	VHH de VEGFxAng2 VEGFANGBII00022-25-28 purificados que se unen a VEGF164 de (A) ratón y (B) rata (ELISA)
	Figura 34:	VHH de VEGFxAng2 VEGFANGBII00022-25-28 purificados que se unen a (A) VEGF-B humano, (B) VEGF-C humano, (C) VEGF-D humano y (D) PIGF humano (ELISA)
40	Figura 35:	VHH de VEGFxAng2 VEGFANGBII00022-25-28 purificados que bloquean la interacción hAng2-hTie2 (39-1), mAng2-mTie2 (39-2) y cAng2-cTie2 (39-3) (ELISA)
	Figura 36:	VHH de VEGFxAng2 VEGFANGBII00022-25-28 purificados que bloquean la interacción hAng1-hTie2 (ELISA)
	Figura 37:	VHH de VEGFxAng2 VEGFANGBII00022-25-28 que bloquean la supervivencia de HUVEC mediada por hAng2.

Materiales y métodos:

a) Producción y ensayo de funcionalidad de VEGF109

Se clona un ADNc que codifica el dominio de unión a receptor de la isoforma del factor de crecimiento endotelial vascular humano VEGF165 (GenBank: AAM03108.1; restos de aminoácidos 27-135) en el vector pET28a vector (Novagen, Madison, WI) y se sobreexpresa en *E. coli* (BL21 Star DE3) como una proteína insoluble marcada con His. La expresión se induce mediante la adición de IPTG 1 mM y se permite que continúe durante 4 horas a 37 °C. Las células se recogen por centrifugación y se lisan por sonicación del sedimento celular. Se aíslan cuerpos de inclusión por centrifugación. Después de una etapa de lavado con Tritón X 100 1 % (Sigma-Aldrich), se solubilizan proteínas usando clorhidrato de guanidina 7,5 M y se vuelven a plegar por ciclos consecutivos de diálisis durante una noche usando tampones con concentraciones de urea decrecientes de 6 M a 0 M. La proteína replegada se purifica por cromatografía de intercambio iónico usando una columna MonoQ5/50GL (Amersham BioSciences) seguido de filtración en gel con una columna de Superdex75 10/300GL (Amersham BioSciences). La pureza y homogeneidad de la proteína se confirma por SDS-PAGE y transferencia de Western. Además, la actividad de unión a VEGFR1, VEGFR2 y Bevacizumab se controla por ELISA. Para este fin, se inmoviliza VEGF109 humana recombinante 1 µg/ml durante una noche a 4 °C en una placa MaxiSorp de 96 pocillos (Nunc, Wiesbaden, Alemania). Los pocillos se bloquean con una solución de caseína (1 %). Se añaden diluciones en serie de VEGFR1, VEGFR2 o Bevacizumab a la placa recubierta con VEGF109 y se detecta la unión usando IgG, antihumana de cabra conjugada con fosfatasa alcalina (AP), específica de Fc (Jackson Immuno Research Laboratories Inc., West Grove, PA, Estados Unidos) y una reacción enzimática posterior en presencia del sustrato PNPP (p-nitrofenilfosfato) (Sigma-Aldrich). VEGF109 se pudo unir a VEGFR1, VEGFR2 y Bevacizumab, lo que indica que el VEGF109 producido está activo.

b) Conjugación de KLH de VEGF165 y ensayo de funcionalidad de VEGF165 conjugado con KLH

Se conjugan VEGF165 humano recombinante (R&D Systems, Minneapolis, MN, Estados Unidos) con hemocianina de lapa californiana de maricultura (mckLH) usando el kit Imject Immunogen EDC con mckLH (Pierce, Rockford, IL, Estados Unidos) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se confirma conjugación eficaz del polipéptido con mckLH por SDS-PAGE. La funcionalidad de la proteína conjugada se comprueba por ELISA: se inmoviliza VEGF165 conjugado con KLH 2 µg/ml durante una noche a 4 °C en una placa MaxiSorp de 96 pocillos (Nunc, Wiesbaden, Alemania). Los pocillos se bloquean con una solución de caseína (1 %). Se añaden diluciones en serie de VEGFR1 o VEGFR2 y la unión se detecta usando una IgG antihumana de cabra conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRP), específica de Fc (Jackson Immuno Research Laboratories Inc., West Grove, PA, Estados Unidos) y una reacción enzimática posterior en presencia del sustrato TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) (Pierce, Rockford, IL, Estados Unidos). La proteína conjugada con KLH aún podía interactuar con VEGFR1, VEGFR2 y Bevacizumab, lo que confirma que los epítomos relevantes de VEGF165 aún están accesibles.

Ejemplo 1

La inmunización con formatos de VEGF diferentes induce una respuesta inmune humoral en llama

1.1. Inmunizaciones

Después de la aprobación por el Comité de Ética de la facultad de Medicina Veterinaria (University Ghent, Bélgica), se inmunizan 4 llamas (denominadas N° 264, 265, 266, 267) de acuerdo con protocolos convencionales con 6 inyecciones intramusculares (100 o 50 µg/dosis a intervalos semanales) de VEGF109 humano recombinante. La primera inyección en el día 0 se formula en Adyuvante Completo de Freund (Difco, Detroit, MI, Estados Unidos), mientras que las inyecciones posteriores se formulan en Adyuvante Incompleto de Freund (Difco, Detroit, MI, Estados Unidos). Además, se inmunizan cuatro llamas (designadas N° 234, 235, 280 y 281) de acuerdo con el siguiente protocolo: 5 inyecciones intramusculares con VEGF165 humano conjugado con KLH (100 o 50 µg/dosis a intervalos bisemanales) seguido de 4 inyecciones intramusculares de VEGF109 humano (primera dosis de 100 µg seguido 2 semanas después de tres dosis de 50 µg a intervalo semanal).

1.2. Evaluación de respuestas inmunes inducidas por VEGF en llama

Para controlar titulaciones de suero específicas de VEGF, se prepara un ensayo de ELISA en el que se inmovilizan 2 µg/ml de VEGF165 o VEGF109 humano recombinante durante una noche a 4 °C en una placa MaxiSorp de 96 pocillos (Nunc, Wiesbaden, Alemania). Los pocillos se bloquean con una solución de caseína (1%). Después de la adición de diluciones de suero, se detecta IgG total unida usando inmunoglobulina de cabra anti-llama conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRP) (Bethyl Laboratories Inc., Montgomery, TX, Estados Unidos) y una reacción enzimática posterior en presencia del sustrato TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) (Pierce, Rockford, IL, Estados Unidos). Para llamas 264, 265, 266 y 267, se realiza un ELISA adicional en el que las respuestas específicas de isotipo contra VEGF165 y VEGF109 se evalúan. Las respuestas específicas de isotipo se detectan usando mAb de ratón que reconocen específicamente IgG1 de llama convencional e IgG2 e IgG3 de llama únicamente de cadena pesada [Daley *et al.* (2005). Clin. Diagn. Lab. Imm. 12:380-386] seguido de un conjugado de HRP de conejo anti ratón (DAKO). Se desarrollan ELISA usando TMB como sustrato cromogénico y se mide la absorbancia a 450 nm. En la Tabla 1 se representan los títulos en suero para cada llama.

Tabla 1: Respuesta en suero específica mediada por anticuerpo contra VEGF165 y VEGF109.

ELISA (recubierto en fase sólida con proteína recombinante)

Llama	Inmunógeno	VEGF165 humano recombinante				VEGF109 recombinante			
		IgG Total	IgG1	IgG2	IgG3	IgG Total	IgG1	IgG2	IgG3
234	VEGF165-KLH + VEGF109	++	n/d	n/d	n/d	++	n/d	n/d	n/d
235	VEGF165-KLH + VEGF109	++	n/d	n/d	n/d	++	n/d	n/d	n/d
280	VEGF165-KLH + VEGF109	+	n/d	n/d	n/d	+	n/d	n/d	n/d
281	VEGF165-KLH + VEGF109	+	n/d	n/d	n/d	+	n/d	n/d	n/d
264	VEGF109	n/d	++	+	+	++	++	+	+
265	VEGF109	n/d	++	+	+	+	++	+	+
266	VEGF109	n/d	++	+	+/-	++	++	+	+/-
267	VEGF109	n/d	+/-	-	-	+/-	+/-	-	-

n/d: no determinado

Ejemplo 2

5 Clonación de repertorios de fragmentos de anticuerpo sólo de cadena pesada y preparación de fagos

Después de la inyección de inmunógenos final, se recogen tejidos inmunes como fuente de células B que producen los anticuerpos de cadena pesada a partir de las llamas inmunizadas. Típicamente, se recogen dos muestras de sangre de 150 ml, recogidas 4 y 8 días después de la última inyección de antígeno, y una biopsia de ganglio linfático, recogida 4 días después de la última inyección de antígeno, por animal. A partir de las muestras de sangre, se preparan células mononucleares de sangre periférica (PBMC) usando Ficoll-Hypaque de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, Estados Unidos). A partir de las PBMC y de la biopsia de ganglio linfático, se extrae el ARN total, que se usa como material de partida para RT-PCR para amplificar los segmentos de ADN que codifican VHH, como se describe en el documento WO 2005/044858. Para cada llama inmunizada, se construye una biblioteca reuniendo el ARN total aislado de todos los tejidos inmunes recogidos de ese animal. En resumen, el repertorio de VHH amplificado por PCR se clona mediante sitios de restricción específicos en un vector diseñado para facilitar la presentación en fagos de la biblioteca de VHH. El vector procede de pUC119 y contiene el promotor de LacZ, una secuencia codificante de la proteína gIII del fago M13, un gen de resistencia para ampicilina o carbenicilina, un sitio de clonación múltiple y una secuencia líder híbrida de gIII-pelB (pAX050). En fase con la secuencia codificante de VHH, el vector codifica una señal c-myc C-terminal y un marcador His6. Los fagos se preparan de acuerdo con protocolos convencionales y se almacenan después de la esterilización en filtro a 4 °C para un uso adicional.

Ejemplo 3

Selección de VHH específicos para VEGF mediante presentación en fago

Se usan bibliotecas de fago de VHH en diferentes estrategias de selección, aplicando una multiplicidad de condiciones de selección. Las variables incluyen i) el formato de proteína VEGF (rhVEGF165, rhVEGF109 o rmVEGF164), ii) el método de presentación de antígeno (fase sólida: recubiertas directamente o mediante un marcador de biotina en placas recubiertas de Neutravidina; fase de solución: incubación en solución seguido de captura en placas recubiertas con Neutravidina), iii) la concentración de antígeno y iv) el método de elución (tripsina o elución competitiva usando VEGFR2). Todas las selecciones se realizan en placas de 96 pocillos Maxisorp (Nunc, Wiesbaden, Alemania).

Las selecciones se realizan como se indica a continuación: se incuban bibliotecas de fagos a RT con concentraciones variables de antígeno de VEGF, en solución o inmovilizado en un soporte sólido. Después de 2 h de incubación y lavado extensivo, se eluye el fago unido. En caso de que se use tripsina para la elución de fagos, la actividad proteasa se neutraliza inmediatamente por adición de inhibidor de proteasa AEBSF 0,8 mM. Las producciones de fago que muestran enriquecimiento con respecto al nivel de fondo se usan para infectar *E. coli*. Las células *E. coli* infectadas se usan para preparar fagos para la siguiente vuelta de selección (rescate de fagos) o se

cultivan en placas de agar (LB+amp+glucosa^{2%}) para el análisis de clones de VHH individuales. Para explorar una producción de selección con respecto a agentes de unión específicos, se seleccionan colonias individuales a partir de las placas de agar y se cultivan en placas de 96 pocillos profundos de 1 ml. La expresión de VHH controlada por LacZ se induce añadiendo IPTG (0,1-1 mM final). Se preparan extractos periplásmicos (en un volumen de ~80 µl) de acuerdo con métodos convencionales.

Ejemplo 4

Identificación de VHH de unión a VEGF y bloqueo del receptor de VEGF

Se ensayan extractos periplásmicos con respecto a unión a VEGF165 por ELISA. Brevemente, se inmoviliza VEGF humano recombinante 2 µg/ml durante una noche a 4 °C en una placa MaxiSorp de 96 pocillos (Nunc, Wiesbaden, Alemania). Los pocillos se bloquean con una solución de caseína (1 %). Después de la adición típicamente de un dilución 10 veces de los extractos periplásmicos, se detecta unión a VHH usando anti-myc de ratón (Roche) y un conjugado anti-HRP de ratón (DAKO). Los clones que muestran señales de ELISA de > 3 veces por encima del fondo se consideran VHH que se unen a VEGF.

Además, se exploran extractos periplásmicos en un ensayo AlphaScreen de VEGFR2 humano/VEGF165 humano (Ensayo Homogéneo de Proximidad Luminiscente Amplificada) para evaluar la capacidad de bloqueo de los VHH. Se biotinila VEGF165 humano usando Sulfo-NHS-LC-Biotina (Pierce, Rockford, IL, Estados Unidos). Se captura quimera de VEGFR2/Fc humano (R&D Systems, Minneapolis, MN, Estados Unidos) usando un VHH anti-Fc humano que se acopla a perlas aceptoras de acuerdo con las instrucciones del fabricante (Perkin Elmer, Waltham, MA, Estados Unidos). Para evaluar la capacidad de neutralización de los VHH, se diluyen extractos periplásmicos 1/25 en tampón de PBS que contiene Tween 20 0,03 % (Sigma-Aldrich) y se preincuba con VEGF165 humano biotinilado 0,4 nM durante 15 minutos a temperatura ambiente (TA). A esta mezcla se añaden las perlas aceptoras (10 µg/ml) y VEGFR2-huFc 0,4 nM y se incuba adicionalmente durante 1 hora a TA en oscuridad. Se añaden posteriormente perlas donantes (10 µg/ml) seguido de incubación de 1 hora a TA en oscuridad. La fluorescencia se mide leyendo las placas en el lector de Placas multimarcador Envision (Perkin Elmer, Waltham, MA, Estados Unidos) usando una longitud de onda de excitación de 680 nm y una longitud de onda de emisión entre 520 nm y 620 nm. El extracto periplásmico que contiene VHH irrelevante se usa como control negativo. Los extractos periplásmicos que contienen VHH anti-VEGF165 que son capaces de reducir la señal de fluorescencia con más de 60 % en relación con la señal del control negativo se identifican como un acierto. Todos los aciertos identificados en el AlphaScreen se confirman en un ELISA de competición. Para este fin, se reviste una placa MaxiSorp de 96 pocillos (Nunc, Wiesbaden, Alemania) con quimera de VEGFR2 humana 1 µg/ml (R&D Systems, Minneapolis, MN, Estados Unidos). Se incuban diluciones cinco veces de los extractos periplásmicos en presencia de una concentración fija (4 nM) de VEGF165 humano biotinilado en tampón de PBS que contiene caseína 0,1 % y Tween 20 0,05 % (Sigma-Aldrich). La unión de estos complejos de VHH/bio-VEGF165 con la placa revestida con quimera de VEGFR2 humano se detecta usando extravidina conjugada con peroxidasa de rábano rusticano (HRP), (Sigma, St Louis, MO, Estados Unidos). Se enumeran los ID de secuencia de VHH y las secuencias de aminoácidos correspondientes de VHH de unión a VEGF (no bloqueadores del receptor) y VHH inhibidores (bloqueadores del receptor) en la Tabla 2 y Tabla 3, respectivamente.

Tabla 2: ID de secuencia y secuencias de aminoácidos de VHH anti-VEGF monovalentes "no bloqueadores del receptor" (FR, marco; CDR, región determinante de complementariedad).

VHH SEQ ID NO:	ID/ FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII 01C02/58	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCTASGGSFS	SYGMG	WFRQSPG KEREFVS	AISEYSNTY CSDSVRG	RFTISRDNKTNTV YLQMNSLTPDDTA IYYCAA	SPILLT TEWYKY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 01E07/59	EVQLVESGGG LVQAGDLSRL SCVATGRTFR	ASDMG	WFRQAPG KEREFVA	AINWSGLST FYTDSVKG	RFTISRDNNGAL YLQMNTLKPEDTA VYSCAA	GRIPSS RFSSPA AYAS	WGQG TQVTVSS
VEGFBII 03D12/60	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCTASTSIYT	ITVMA	WFRQAPG KEREFVA	AITWSAPTT YYADSVKG	RFTISRDNKNTV YLRMNSLKPEDSA IYYCAA	DRFKGRSI VTPSDYRY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 04B08/61	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGSAGV	DITVA	WYRQAPG IQRQLVA	TITPSGYT YYWDFVKG	RFTISRDNKNTV YLQMNSLKPEDTA AYYCNT	QFY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 05B02/62	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS	TDDVG	WFRQAPG KEREFVA	VIRWSTGGT YTSDSVKG	RFTLSRDNAKNTM YLQMNSLKPEDTA VYYCAA	RSRPLGA GAWYSG EKHNYN	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 05B03/63	EVQLVESGGG LAQAGDLSRL SCAASGRSFS	HYNMG	WFRQAPG KEREFVA	SIRGGGGST TYANSVKD	RFTISRDNKNTV YLQMNSLKPEDTA VYYCAA	TAFYRGPY DYDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 05B05/64	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCVASGIRFM	SMA	WYRQAPG KHRELVA	RISGGGTTA YVDSVKG	RFTISRDNKNTV YLQMNSLKAEDTA VYYCNT	FSSRPNP	WGAGTQ VTVSS
VEGFBII 06G02/65	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGNIFS	NNAMA	WYRQAPG KQRELVA	RISGGGGFT YYLDSVKG	RFTVSRDNKNTV YLQMNSLKPEDTA VYYCNA	AYRTYNY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 07A03/66	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASTSIYS	ITVMA	WFRQAPG KESEFVA	AITWSAPSS YYADSVKG	RFTISRDNKNTV YLQMNSLKPEDSA IYYCAA	DRFKGRSI VTRSD YKY	WGQGT QVTVSS

VHH SEQ ID NO:	ID/ FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII 07A06/67	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAVSTSIYS	ISVMA	WFRQAPG KERAFVA	AITWSAPTT YYADSVKG	RFTISRDNKNTV YLQTNLSLKPEDSA IYYCAA	DRFKGRS IVTRSDYRY	WQGGT QVTVSS
VEGFBII 07D08/68	EVQLVESGGG LVQTGGSLRL SCAASGRSFS	NYAMA	WFRQAPG KEREFVS	AINQRGSNT NYADSVKG	RFTISRDSAKNSVF LQMNSLKPEDTAVY YCAA	STWYGYSTY ARREEYRY	WQGGT QVTVSS
VEGFBII 08D09/69	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRSFS	DNVMG	WFRQAAG KEREFVA	HISRGGSRT EYAESVKG	RFTISRDNKTKTMYL QMNSLKPEDTAV YYCAA	SRSVALA TARPYDY	WQGG TQVTVSS
VEGFBII 08E07/70	EVQLVESGGG LAQAGGSLRL SCTTSGLTFS	SYVMG	WFRQAPG KEREFVA	TISWNKIST IYTDSVKG	RFTVSRDNNKN TVYLQMNSLKPE DTAVYYCAA	DASRPTL RIPQY	WQGGT QVTVSS
VEGFBII 08F06/71	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGSIVR	SDVMG	WYRQAPG KQRELVA	FIRSLGSTY YAGSVKG	RFTISRDDAAN TVYLQMNSLKPE DTAVYYCNA	RFSGESY	WQGGT PVTVSS
VEGFBII 08F07/72	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAVSGSTFG	LYAMG	WFRQAPG REREFLS	AITWSAGDT QYADSVKG	RFTISRDNARNTV NLQMNGLPEDTA VYYCAG	RQWGGTYYY HGSYAY	WQGGT QVTVSS
VEGFBII 09A09/73	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCVASGIRFM	SMA	WYRQAPG KHRELVA	RISSEGTTA YVDSVKG	RFTISRDNKNTV YLQMNSLKAEDTA VYYCNT	FSSRPNP	WGAG TTVTVSS
VEGFBII 09A12/74	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRSFS	TDDVG	WFRQAPG KEREFVA	VIRWSTGGT YTSDSVAG	RFTLSRDNKNTM YLQMNSLKPEDTA VYYCAA	RSRPLGAGAW YTGETRYDS	WQGGT QVTVSS
VEGFBII 09D05/75	EVQLVESGGG LVQPGDSLRL SCAASGLSFS	RYGMG	WFRQAPG KEREFVI	AISEYDNVY TADSVRG	RFTISRDNKSTVY LQMNSLKSEDATVY YCAA	SPILLSTDE WYKY	WGRG TQVTVSS
VEGFBII 09F05/76	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL	TDDVG	WFRQAPG KEREFVA	VIRWSTGGT YTSDSVKG	RFTLSRDNKNTM YLQMNSLKPEDTAV	RSRPLGAGA WYTGETRYNY	WQGG TQVTVSS

VHH SEQ ID NO:	ID/ FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
	SCAASGRFTS				YYCAA		
VEGFBII 10C07/77	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASARAFS	NYAMG	WFRQVPG REREFVA	VITRSPSNT YYTDSVKG	RFTISRDNKNTV YLQMNSLKPEDTA YYCAA	HYWNSDSYTY TDSRWYNY	WQQGT QVTVSS
VEGFBII 10E07/78	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRFTS	NYAMG	WFRQAPG KERVLVA	DISSSGINT YYADAVKG	RFTISRDNKNTV YLQMNSLKPEDTAV YYCAA	SAWWYSQ MARDNYRY	WQQGT QVTVSS
VEGFBII 10G04/79	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGDTLS	RYAMG	WFRQAPG KEREFVA	SINTSGKRT SYADSMKG	RFAVSRDNKNTG YLQMNSLKLEDTA TYYCAA	DRFFGSD SNEPRAYRY	WQQGT QVTVSS
VEGFBII 10G05/80	EVQLVESGGG LVQAGESLRL SCVASGITFS	NYNMG	WFRQAPG KEREFVA	TIRHHGYDT YYAESVKG	RFTISRDNKNTV YLQMNSLKPEDT ALYSCAK	KLFWDMDP KTGFSS	WQQGT QVTVSS
VEGFBII 11C08/81	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTLS	SYGLG	WFRQAPG KEREFVA	AIGWGSST YYADSVKG	RFTVSVDNKANT VYLKMNSLEPE DTAVYYCAA	KVRNFNSD WDLTSYNY	WQQGT QVTVSS
VEGFBII 11C11/82	EVQLVESGGG LVQAGGSLML SCAASGRALS	SYAIG	WFRQAPG REREFVA	RISWSGANT YYADSVKG	RFTISRGNAKNTVYL QMNSLKPEDTAAY YCAA	QTTSKYDNYD ARAYGY	WQQGT QVTVSS
VEGFBII 11D09/83	EEQLVESGGG LVQAGGSLML SCAASGRALS	SYAIG	WFRQAPG REREFVA	RISWSGANT YYADSVKG	RFTISRGNAKNTVYLQ MNSLKPEDTAAYCAA	QTTSKYDNY DARAYGY	WQQGT QVTVSS
VEGFBII 11E04/84	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRFTS	SYAMG	WFRQAPG KEREFVA	TISQSGYST YYADSVKG	RFTISRDNKNTVN LQMNSLKPEDTAVY YCAA	DPFYSYGS PSPRY	WQQGT QVTVSS
VEGFBII 11E05/85	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCASSGRFLS	FSAMG	WFRQAPG KEREFVA	AFKWSGSTT YYADYVKG	RFTISTDNKNTNLF LQMNSLKPEDTA IYYCAV	DRFYTGYY SSDEYD	WQQGT QVTVSS

VHH SEQ ID NO:	ID/ FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII 11F10/86	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASTSIYS	ITVMA	WFRQAPG KEREFVA	AITWSAPSS YYADSVKG	RFTISRDNAKNTVYLQ VNSLKPEDSAIYYCAA	DRFKGR SIVTRSDYRY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 11F12/87	EVQLVESGGG LVQSGGSLRL SCAASGRSFS	SLAMG	WFRQVPG KDREFVA	SISQSGITT SYADSVKS	RFTISRDSAKNTVYLQ MNLKPEDTAVYYCAT	SVFYSTAL TRPVDYRY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 11G09/88	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASTSIYS	ITVMA	WFRQAPG KEREFVA	AITWSAPTT YSADSVKG	RFTISRDNAKNTVYLQ MNSLKPEDSAIYYCAA	DRFKGRSIV TRSDYRY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 12A07/89	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCSVTGRTFN	KYVMG	WFRQAPG NDREFVA	AITSRDGPT YYADSVKG	RFTISGDNTKNKIFLQ MNSLMPEDTAVYYCAI	DEDLYHYSSYH FTRVDLYHY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 12B01/90	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL ACAAAGFTLS	SSWMY	WVRQAPG KGLEWVS	RISPGGLFT YYVDSVKG	RFSVSTDNANNNTLYLQ MNSLKPEDTALYSCAK	GGAPNYTP	RGRGT QVTVSS
VEGFBII 12C04/91	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGSIVR	SDVMG	WYRQAPG KQRELVA	FIRSLGST YYAGSVKG	RFTISRDNAAANTVYLQ MNNLKPEDTAVYYCNA	RFSGESY	WGQGT PVTVSS
VEGFBII 12E10/92	EVQLVESGGG LAQAGGSLRL SCTASGRTFN	NYVMG	WFRQAPG NEREFVA	AITSTNGPT YYADSVKG	RFTISGDNTKNKVFL QMDSLRLPEDTAVYYCAI	DEDLYHYSSYH YTRVALYHY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 12G04/93	EVQLVESGGG LVQSGDSLRL SCAVSGNTFG	LYAMG	WFRQAPG REREFVS	AITWSAGDT QYADSVKG	RFTISRDNARNNTVNL QMNGLKPEDTAVYYCAG	RQWGGTTY YHGSYAW	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 16C03/94	EVQLVESEGG LVQAGGSLRL SCAASGRFTS	TDDVG	WFRQAPG KEREFVA	VIRWSTGGT YTSDSVKG	RFTLSRDNAKNTMYLQ MNSLKPEDTAVYYCAA	RSRPLGAGA WYTGENYYNY	WGQGT QVTVSS
VEGFBII 16F11/95	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL	GYDMG	WFRQAPG KEREFVT	AITWSGGST YSPDSVKG	RFTISRDNAKNTVYL QMNNLTPEDTAVYYCAS	GRWRSRD DSEKYDI	WGHGT QVTVSS

VHH SEQ ID NO:	ID/ FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
	SCAASGRTSS						
VEGFBII 36C08/96	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWTSMT YYADSVKG	RFTISRDNKNTVY QMNSLKPEDTAVYYCAV	DRRRTYSR WRFYTGNDYDY	WQGT QVTSS
VEGFBII 37F09/97	EVQLVESGGG LVQTGGSLRL SCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWGGMT YYADSVQG	RFTISRDNKSTVYL QMNSPKPEDTAVYYCAV	DRRRAYS WRYTGVNDYEF	WQGT QVTSS
VEGFBII 38A06/98	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWGGMT YYADSVKG	RFTISRDNKNTVYL QMNSLKPEDTAVYYCAV	DRRRLYSRW RYYTGVNDYDY	WQGT QVTSS
VEGFBII 39H11/99	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWTGDMT YYADSVKG	RFTISRDKAKNTVSLQ MNSLKPEDTAVYYCAV	DRRRTYSRW YYTGVNEYEY	WQGTQ VTVSS
VEGFBII 41B06/ 100	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWTGDMT YYADSVKG	RFTISRDKAKNTVSLQ MNSLKPEDTAVYYCAA	DRRRTYSRW TGVNEYEY	WQGT QVTSS
VEGFBII 41C05/ 101	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS	VYTMG	WFRQAPG KEREFVA	TISRTGDR SYANSVKG	RFTISRENKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYSCAA	GPIAPSPRPREYYY	WQGT QVTSS
VEGFBII 41D11/ 102	EVQLMESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWTGDMT YYADSVKG	RFTISRDKAKNTVSLQ MNSLKPEDTAVYYCAV	DRRRTYSRW YYTGVNEYEY	WQGT QVTSS
VEGFBII 42F10/ 103	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFS	AYDMG	WFRQAPG KEREFVA	VISWGGMT DYADSVKG	RFTISRENKNTQFLQ MNSLKPEDTAVYYCAV	GRRRAYS WRYTGVNEYDY	WQGT TQVTSS
VEGFBII 86C11/ 104	EVQLVESGGG LVQAGDLSRL SCTASGRTFN	SYAMG	WFRQAPG KERESVA	HINRGSST YYADSVKG	RFTISRDNKNTVYL QLNSLKPEDTAVYYCAA	GRIYSSDGP SASFNY	WQGT QVTSS

VHH SEQ ID NO:	ID/ FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII 86F11/ 105	EVQLVESGGGL VQAGDSLRL SCFTSARTFD	TWAMA	WFRQAPG KEREFIS	AISWGSMT YYTDSVKG	RFIISRDNAQNTLFLQ MNNTAPEDTAVYYCAA	KTVDYCSAYEC YARLEYDY	WGRGA QVTVSS
VEGFBII 86G08/ 106	EVQLVESGGG LMQTGDSLRL SCAASGLRFT	STNMG	WFRQGP KEREFVA	AITLSGTT YYAEAVKG	RFTISRDNKNTVALQ MNSLKPEDTAVYYCGA	DPSYVSTSRYT KATEYDY	WQGT QVTVSS
VEGFBII 86G10/ 107	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGRTFN	TYTMG	WFRQTPG TEREFVA	AIRWTVNIT YYADSVKG	RFTISRDIVKNTVYLQ MNSLKPEDTAVYYCAA	QTSAPRSLIRM SNEYPY	WQGT QVTVSS
VEGFBII 86G11/ 108	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGLTFS	LYTVG	WFRQAPG KEREFVA	YISRSGSNR YYVDSVKG	RFTLSRDNAKNTVD LQMNSLKTEDTAVYYCAA	TSRGLSSLAGYNY	WGRG TQVTVSS
VEGFBII 86H09/ 109	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCTASGSFAK	SYRMG	WFRRTPG KEDEFVA	SISWTYGST FYADSVKG	RFTMSRDKAKNAG YLQMNSLKPEDTA LYYCAA	GAQSDRYNIRSYDY	WQGT QVTVSS
VEGFBII 87B07/ 110	EVQLVESGGG LVQPGGSLKL SCTASGFTFS	TSWMH	WVRQAPG KGLEWVS	SIPPVGHFA NYAPSVKG	RFTISRDNKNTL FLQMNSLKSEDTA YYCAK	DSAGRT	KGQGT QVTVSS
VEGFBII 88A01/ 111	KVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASERTFS	NYAMD	WFRQAPG KEREFVA	AITRSGGGT YYADSVKG	RFTISRDNKNTVY LQMNSLKPEDTAVY CAA	TRSSITVVGVGMEY	WGKG TLVTVSS
VEGFBII 88A02/ 112	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGFTFG	DYDIG	WFRQAPG NEREGVS	CITTDVGT YYADSVKG	RFTISSDNKNTVYL QINDLKPEDTAIYYCAV	DTQDLGLDIF CRNGPFDG	WQGT QVTVSS
VEGFBII 88B02/ 113	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCTASGLNLD	DYAIG	WFRQAPG KEREGVS	CISSYDSVT YYADHVKG	RFTISRDSAKNTLYL QMNSLSIEDTGVY YCAA	EREQLRRRES PHD ELLRLCFYGMRY	SGKGT LVTVSS
VEGFBII 88E02/ 114	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL	DYAIG	WFRQAPG KEREAVS	CISSDTSI DYTNSVKG	RFTFSRDNAKNTVY LQMNSLKPEDTAVY	AFRCSGYELRGFPT	WQGT QVTVSS

VHH SEQ ID NO:	ID/ FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
114	SCVASGFRLD				YCAA		
VEGFBII 88G03/ 115	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGGTFS	SLAVG	WFRQAPG KEREFVA	RITWSGATT YYADAVKD	RFTISRDNAKNTMY LQMNSLKPEDTAV YYCAA	DRSPNIINVVTAYEYDY	WGQG TQVTVSS
VEGFBII 88G05/ 116	EVQLVESGGG LVQPGASLRL SCAASGDGFT	LYNMG	WFRQAPG KEREFVA	AITSSPMST YYADSVKG	RFSISINNDKTTGF LQMNVLKPEDTGV YFCAA	PEGSFRRQYAD RAMYDY	WGQG QVTVSS
VEGFBII 88G11/ 117	EVQLVESGGG LAQAGGSLRL SCAASGRTFS	GSDMG	WFRQSPG KEREIVA	AIRLGSIT YYPDSVKG	RFTISRDNAKNTV YLQMNSLKPEDTA VYYCAA	RSTYSYYLALADRGG YDY	WGQG TQVTVSS
VEGFBII 88H01/ 118	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCVASGFTLG	TYAIG	WFRQAPG KEREAVS	CMSAGDSIP WYTASVKG	RFTTSTDNARNTV YLQMNSLKPEDTA HYCAA	ARYHGDYCYEGY YPF	WGQG QVTVSS
VEGFBII 89B04/ 119	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASTSISS	TNFMG	WYRQAPG KQRELVA	TITSSSITN YVDSVKG	RFTISRDNAKNTV YLQMTSLKPEDTAVYYCHA	RWRWSDVEY	WGKGT LVTVSS
VEGFBII 89B08/ 120	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGTTSS	IFAMR	WYRQAPG KQRELVA	SITRSSITT YADSVKG	RFTPSRDNAKNTV SLQMNSLKPEDTAVYYCNA	AIRPELYSVVNDY	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 89D04/ 121	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCATSGLTFS	DYNLG	WFRQAPG KERQFVA	VISWRDSFA YYAEPVKG	RFTISRDNAKNTV YLQMNSLKPEDTA VYYCAA	DRVSSRLVLPNTSP DFGS	WGQGTQ VTVSS
VEGFBII 89F09/ 122	EVQLVESGGG LVQAGDSLRL SCAASGRTFN	NAIMG	WFRQAPG QEREFVA	AMNWRGGPT YYADSVKG	RFTISGDNKTNTV FLQMNFLKPEDTA VYYCAA	DEDLYHYSSYHYS RVDLYHY	WGQGTQV TVSS
VEGFBII 89G09/ 123	EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGTTSS	IFAMR	WYRQAPG KQRELVA	SITRSSITT YADSVKG	RFTLSRDNAKNTV SLQMNSLKPEDTA VYYCNA	AIRPELYSVVNDY	WGQGTQ VTVSS

VHH SEQ ID NO:	ID/ FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII 89H08/ 124	EVQLVESGGG LVQAGGSLRL SCAASGGGSFS	SYAPG	WFRQAPG KEREFVA	AFTRSSNIP YYKDSVKG	RFTISRDNHAHTVY LQMNSLKPEDTAI YYCAV	NLGSTWSRDQRTY DY	WGQGTQ VTVSS

Tabla 3: ID de secuencia y secuencias de aminoácidos de VHH anti-VEGF monovalentes bloqueadores del receptor (FR, marco; CDR, región determinante de complementariedad) SEQ ID NO: 9-46

VHH ID/ SEQ ID NO:	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII 22A10/9	EVQLVESGGGLV QPGDSL KLSCAFSGR TFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FW	AISSGGYIYDS VSLEG	RFTISRDN TKNTVYL VYLQTPSLKPEDTAD YYCAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 22A11/10	EVQLVESGG GLVQPGDSLKLS CAFSGR TFS	SYSMA	WFRQAQ GKERE FW	AISSGGFIYDAV SLEG	RFTISRDN TKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 22B06/11	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLS CAAFSGR TFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FW	AISSGGYIYDS VSLEG	RFTISRDN TKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 22B07/12	EVQLVESGGGLV QAGDSLRLSCAA SGRTFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FW	AISSGNYKYD SVSLEG	RFTISRDN TKNTVYL QINSLKPEDTAVYYC AA	SRAYGSSRLRLGD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 22E04/13	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLS CAAFSGR TFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FW	AISSGGSIYDSV SLQG	RFTISRDN TKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYASSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 23A03/14	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLS CAAFSGR TFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FW	AISSGGYIYDSV SLQG	RFTISRDN TKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 23A06/15	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLS CAAFSGR TFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FW	AISSGGFIYDAV SLEG	RFTISRDN TKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 23A08/16	EVQLVESGGGLV QTGDSLRLSCVA SGRTFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FW	AINGGYKYDS VSLEG	RFTISRDN TKNTVYL QINSLKPEDTAVYYC AA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS

VH ID/ SEQ ID NO:	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII 23A09/17	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLSCAFS GRTFG	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGYIYDS VSLEG	RFTISRDNKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLPD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 23B04/18	EVQLVESGGGLV QTGDSLRLSCEV SGRTFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISKGGYKYDS VSLEG	RFTISKDNKNTVYL QINSLKPEDTAVYYC AS	SRAYGSSRLRLAD TYEY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 23D11/19	EVQLVESGGGLV QPGDSLRLSCAF SGRTFS	SYSMA	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGFIYDAV SLEG	RFTISRDNKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 23E05/20	EVQLVESEGGGLV QPGDSLKLSCVA SGRTSS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGYIYDSV SLQG	RFTISRDNKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 23F02/21	EMQLVESGGGLV QPGDSLKLSCAFS GRTFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGYIYDS VSLEG	RFTISRDNKNTVYL QTPSLKPEDTADYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 23F05/22	EVQLVESGGGLV QAGDSLRLSCAA SGRTFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSSGNYKYD SVSLEG	RFTISRDNKNTVYL QINSLKPKDTAVYYC AA	SRAYGSSRLRLGD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 23F11/23	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLSCAFS GRTFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGYIYD SVSLEG	RFTISRDNKNTVYL QTPSLKPEDTADYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 23G03/24	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLSCAFS GRTFG	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGYIYDS VSLEG	RFTISRDNKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLPG TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 24C04/25	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLSCVA SGRTSS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGYIYDSV SLQG	RFTISRDNKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS

VH ID/ SEQ ID NO:	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII 27D08/26	EVQLVESGGGLV QTGDSLRLSCAA SGRTFS	YSYMG	WFRQAQGKERE FVW	AISSGGYKYDS VSLEG	RFTISRDNNTKNTVYL QINSLKPEDTAVYYC AA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 27G07/27	EVQLVESGGGLV QPGDSLRLSCVA SGRTSS	YSYMG	WFRQAQGKERE FVW	AISSGGYIYDSV SLQG	RFTISRDNNTKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 30C09/28	EVQLVESGGGLV QPGDSLRLSCIAS GRTSS	YSYMG	WFRQAQGKERE FVW	AISSGGYIYDSV SLQG	RFTISRDNNTKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 30E07/29	EVQLVESGGGLV QAGDSLRLSCAA SGRTFS	YSYMG	WFRQAQGKERE FVW	AISSSGNYKYD SVSLEG	RFTISRDNNTKNTVYL QINSLKPEDTAVYYC AA	SRAYGSSRLRLGD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 31C07/30	EVQLVESGGGLV QTGDSLRLSCAA SGGTFSS	YSYMG	WFRQAQGKERE FVW	AISSSGGYIYDS VSLEG	RFTISRDNNTKNTVYL QTPSLKPEDTADYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 39E02/31	EVQLVESGGGLV QPGDPLKLSAFA SGRTFS	YSYMG	WFRQAQGKERE FVW	AISSSGGYIYDS VSLEG	RFTISRDNNTKNTVYL QTPSLKPEDTADYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 39G04/32	EVQLVESGGGLV QAGDSLRLSCAA SGRTFS	YSYMG	WFRQAQGKERE FVW	AISSSGNYKYD SASLEG	RFTISRDNNTKNTVYL QINSLKPEDTAVYYC AA	SRAYGSSRLRLGD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 40F02/33	EVQLVESGGGLV QPGDSLRLSCAFA SGRTFS	YSYMA	WFRQAQGKERE FVW	AISSGGFIYDAV SLEG	RFTISRDNNTKNTVYL QTPSLKPEGTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 40G07/34	EVQLVESGGGLV QPGDSLRLSCAFA SGRTFS	YSYMG	WFRQAQGKERE FVW	AISSSGGYIYDS VSLEG	RFTISRDNNTKNTVYL QTPSLKPEDTADYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS

VHH ID/ SEQ ID NO:	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII 40H10/35	EVQLMESGGGLV QPGDSLKLSCAFS GRTFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGYIYDS VSLEG	RFTISRDN TKNTVYL QTPSLKPEDTADYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 41B05/36	EVQLVESGGGLV QPGGSLRLSCAF SGRTFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGFIYDAV SLEG	RFTISRDN TKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 41G03/37	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLSCAFS GRTFS	SYSMA	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGFIYDAV SLEG	RFTISRDN TKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 42A05/38	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLSCAFS GRTFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGYIYDS VSLEG	RFTISRDN TKNTVYL QMPSLKPEDTADYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 42D05/39	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLSCAFS GRTFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGYIYDS VSLEG	RFTISRDN TKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 42F11/40	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLSCVA SGRTSS	SYSVG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGYIYDSV SLQG	RFTISRDN TKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 56E11/41	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLSCAFS GRTFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGYIYDS VSLEG	RFTISRDN TKNTVYL QTPSLKPEDAADYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 60A09/42	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLSCAFS GRTFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGYIYDS VSLEG	RFTISRDN TKNTVYL QTPSLKPEDTADYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 61A01/43	EVQLVESGGGLV QAGGSLRLSCAF SGRTFS	SYSMG	WFRQAQ GKERE FVW	AISSGGYKYDA VSLEG	RFTISRDN TKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYASSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS

VHH ID/ SEQ ID NO:	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII 62A09/44	EVQLVESGGDLV QPGDSLKLSCAA SGRTFS	SYSMG	WFRQAQGKERE FVW	AISSSGGYI YDSVSLEG	RFTISRDNNTKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 62D10/45	EVQLVESEGGLV QAGDSLRLSCAA SGRTFS	SYSMG	WFRQAQGKERE FVW	AISSSGNKY YDSVSLEG	RFTISRDNNTKNTVYL QINSLKPEDTAVYYC AA	SRAYGSSRLRLGD TYDY	WGQGTQVTV SS
VEGFBII 62F02/46	EVQLVESGGGLV QPGDSLKLSCAFS GRTFS	SYSMG	WFRQAQGKERE FVW	AIASGGYIY DAVSLEG	RFTISRDNNTKNTVYL QTPSLKPEDTAVYY CAA	SRAYGSSRLRLAD TYDY	WGQGTQVTV SS

- 5 Las tasas de disociación de VHH inhibidores se analizan en Biacore (instrumento Biacore T100 GE Healthcare). Se usa tampón HBS-EP+ como tampón de ejecución y se realizan experimentos a 25 °C. Se captura VEGF165 humano recombinante de forma irreversible en una microplaca sensora CM5 mediante acoplamiento de amina (usando EDC y NHS) hasta un nivel diana de +/- 1500 UR. Después de la inmovilización, las superficies se desactivan con inyección de 10 min de etanolamina 1 M pH 8,5. Se activa una superficie de referencia y se desactiva con EDC/NHS y etanolamina respectivamente. Se inyectan extractos periplásmicos de VHH a una dilución 10 veces en tampón de ejecución durante 2 min a 45 µl/min y se permite que se disocien durante 10 ó 15 min. Entre diferentes muestras, las superficies se regeneran con tampón de regeneración. Se toman dobles referencias de los datos por resta de las curvas en el canal de referencia y de una inyección de tampón de ejecución en blanco. Las curvas procesadas se evalúan ajustando un modelo de desintegración de dos fases en el software de Evaluación Biacore T100 v2.0.1. Los
- 10 valores para k_d -rápida, k_d -lenta y % de rápida se enumeran en la Tabla 4.

Tabla 4: Determinación de tasa de disociación de VHH de bloqueo del receptor anti-VEGF con Biacore

Linaje de linfocitos B	Variante de secuencia única	VHH ID representativa	k_d (rápida)	k_d (lenta)	% de rápida	Nivel de unión (UR)
1	1	VEGFBII22B07	1,50E-02	7,80E-05	31	328
1	2	VEGFBII23A08	1,30E-02	5,00E-05	19	502
1	3	VEGFBII23B04	8,80E-03	4,00E-05	12	768
1	4	VEGFBII27D08	2,40E-02	8,10E-05	13	225
1	5	VEGFBII24C04	1,30E-02	3,40E-05	17	456
1	6	VEGFBII27G07	1,30E-02	3,80E-05	18	471
1	7	VEGFBII22E04	1,80E-02	1,10E-04	14	520
1	8	VEGFBII23A03	1,50E-02	3,20E-05	15	487
1	9	VEGFBII22B06	3,80E-02	9,00E-05	23	168
1	10	VEGFBII23A09	2,70E-02	4,60E-05	20	247
1	11	VEGFBII23G03	2,80E-02	8,60E-05	28	141
1	12	VEGFBII22A11	2,20E-02	4,70E-05	12	461
1	13	VEGFBII23A06	1,70E-02	3,70E-05	13	547
1	14	VEGFBII23F11	2,70E-02	1,30E-04	22	134
1	15	VEGFBII22A10	3,70E-02	4,00E-05	19	229
1	16	VEGFBII23F05	1,60E-02	1,30E-04	29	198

ES 2 606 302 T3

Linaje de linfocitos B	Variante de secuencia única	VHH ID representativa	k _d (rápida)	k _d (lenta)	% de rápida	Nivel de unión (UR)
1	17	VEGFBII23D11	1,90E-02	5,80E-05	13	510
1	18	VEGFBII23F02	n/d	n/d	n/d	n/d
1	19	VEGFBII23E05	1,50E-02	6,90E-05	18	275
1	20	VEGFBII31C07	3,70E-02	1,50E-04	25	77
1	21	VEGFBII30C09	1,50E-02	7,60E-05	19	264
1	22	VEGFBII30E07	1,70E-02	1,30E-04	29	226
1	23	VEGFBII39G04	1,40E-02	7,40E-04	40	210
1	24	VEGFBII41G03	1,20E-02	2,70E-04	20	332
1	25	VEGFBII41B05	1,90E-02	1,20E-04	16	324
1	26	VEGFBII40F02	1,20E-02	9,80E-05	20	258
1	27	VEGFBII39E02	1,90E-02	2,40E-04	13	181
1	28	VEGFBII42D05	3,30E-02	1,50E-04	26	77
1	29	VEGFBII40G07	1,80E-02	3,20E-04	19	139
1	30	VEGFBII42A05	1,60E-02	3,40E-04	25	118
1	31	VEGFBII42F11	9,10E-03	5,00E-04	46	100
1	32	VEGFBII40H10	1,40E-02	2,90E-04	17	200
1	33	VEGFBII62A09	4,10E-02	1,10E-04	23	84
1	34	VEGFBII60A09	3,70E-02	9,30E-05	20	106
1	35	VEGFBII62F02	1,40E-02	8,50E-05	21	205
1	36	VEGFBII62D10	1,90E-02	1,60E-04	40	94

Linaje de linfocitos B	Variante de secuencia única	VHH ID representativa	k_d (rápida)	k_d (lenta)	% de rápida	Nivel de unión (UR)
1	37	VEGFBII61A01	7,40E-03	1,70E-04	21	275
1	38	VEGFBII56E11	3,30E-02	1,40E-04	24	76

n/d, no determinado

Ejemplo 5

Caracterización de VHH anti-VEGF purificados

Se seleccionan tres VHH anti-VEGF inhibidores para caracterización adicional como proteína purificada: VEGFBII23B04, VEGFBII24C4 y VEGFBII23A6. Estos VHH se expresan en *E. coli* TG1 como c-myc, proteínas marcadas con His6. La expresión se induce por adición de IPTG 1 mM y se permite que continúe durante 4 horas a 37 °C. Después de centrifugar los cultivos celulares, se preparan extractos periplásmicos por congelación-descongelación de los sedimentos. Estos extractos se usan como material de partida para purificación de VHH mediante IMAC y cromatografía de exclusión por tamaño (SEC). Las preparaciones de VHH finales muestran el 95 % de pureza según se evalúa mediante SDS-PAGE.

5.1. Evaluación de VHH que bloquean VEGFR2/VEGF165 humano en ELISA de bloqueo de VEGFR2-Fc humano/VEGF165 humano

La capacidad de bloqueo de los VHH se evalúa en un ELISA de bloqueo de VEGFR2-Fc humano/VEGF165 humano. Brevemente, se reviste una placa MaxiSorp de 96 pocillos (Nunc, Wiesbaden, Alemania) con quimera de VEGFR2-Fc 1 µg/ml (R&D Systems Minneapolis, MN, Estados Unidos). Se incuban series de diluciones (intervalo de concentraciones 1 mM - 64 pM) de los VHH purificados en tampón de PBS que contienen caseína 0,1 % y Tween 20 0,05 % (Sigma) en presencia de VEGF165 biotinilado 4 nM. Se detecta unión residual de bio-VEGF165 con VEGFR2 usando extravidina conjugada con peroxidasa de rábano rusticano (HRP) (Sigma, St Louis, MO, Estados Unidos) y TMB como sustrato. Como controles se añaden Bevacizumab (Avastin®) y Ranibizumab (Lucentis®). Se muestran curvas de inhibición de dosis en la Figura 1; los valores de CI_{50} correspondientes y % de inhibición se resumen en la Tabla 5.

Tabla 5: Valores de CI_{50} (nM) y % de inhibición para VHH monovalentes en ELISA de competición de hVEGF165/hVEGFR2-Fc

VHH ID	CI_{50} (nM)	% de inhibición
VEGFBII23B04	2,1	100
VEGFBII23A06	3,0	100
VEGFBII24C04	2,5	100
Ranibizumab	1,6	100
Bevacizumab	1,7	100

5.2. Evaluación de VHH que bloquean VEGFR2/VEGF165 humano en ELISA de bloqueo de VEGFR1-Fc humano/VEGF165 humano

Los VHH también se evalúan en un ELISA de bloqueo de VEGFR1-Fc humano/VEGF165 humano. Brevemente, se reviste una placa MaxiSorp de 96 pocillos (Nunc, Wiesbaden, Alemania) con quimera de VEGFR1-Fc 2 µg/ml (R&D Systems Minneapolis, MN, Estados Unidos). Se incuban series de diluciones (intervalo de concentraciones 1 mM - 64 pM) de los VHH purificados en tampón de PBS que contiene caseína 0,1 % y Tween 20 0,05 % (Sigma) en presencia de VEGF165 biotinilado 0,5 nM. Se detecta la unión residual de bio-VEGF165 con VEGFR1 usando extravidina conjugada con peroxidasa de rábano rusticano (HRP) (Sigma, St Louis, MO, Estados Unidos) y TMB como sustrato. Como controles se añaden Bevacizumab, Ranibizumab y un VHH irrelevante (2E6). Se muestran las curvas de inhibición de dosis en la Figura 2; los valores de CI_{50} correspondientes y % de inhibición se resumen en la Tabla 6.

Tabla 6: Valores de CI_{50} (nM) y % de inhibición para VHH monovalentes en ELISA de competición de hVEGF165/hVEGFR1-Fc

VHH ID	CI_{50} (nM)	% de inhibición
VEGFBII23B04	0,5	64
VEGFBII23A06	0,9	55
VEGFBII24C04	0,8	71
Ranibizumab	1,2	91
Bevacizumab	1,5	96

5.3. Evaluación de los VHH anti-VEGF165 en el AlphaScreen de bloqueo de VEGFR2-Fc humano/VEGF165 humano

La capacidad de bloqueo de los VHH también se evalúa en un AlphaScreen de bloqueo de VEGFR2-Fc humano/VEGF165 humano. Brevemente, se añaden diluciones en serie de VHH purificados (intervalo de concentración: 200 nM – 0,7 pM) en tampón de PBS que contiene Tween 20 0,03 % (Sigma) a bio-VEGF165 4 pM y se incuba durante 15 min. Posteriormente se añaden VEGFR2-Fc (0,4 nM) y perlas aceptoras recubiertas con VHH anti-Fc (20 µg/ml) y esta mezcla se incuba durante 1 hora en oscuridad. Finalmente, se añaden perlas donantes de estreptavidina (20 µg/ml) y después de una hora de incubación en oscuridad, se mide la fluorescencia en el lector de microplacas Envision. Se muestran curvas de respuesta a dosis en la Figura 3. Los valores de CI_{50} para VHH que bloquean la interacción VEGF165 humano – VEGFR2-Fc humano se resumen en la Tabla 7.

Tabla 7: Valores de CI_{50} (pM) y % de inhibición para VHH en AlphaScreen de competición de hVEGF165/hVEGFR2-Fc

VHH ID	CI_{50} (pM)	% de inhibición
VEGFBII23B04	160	100
VEGFBII23A06	250	100
VEGFBII24C04	250	100
Ranibizumab	860	100

5.4. Evaluación de los VHH anti-VEGF165 en el AlphaScreen de bloqueo de VEGFR1-Fc humano/VEGF165 humano

La capacidad de bloqueo de los VHH también se evalúa en un AlphaScreen de bloqueo de VEGFR1-Fc humano/VEGF165 humano. Brevemente, se añaden diluciones en serie de VHH purificados (intervalos de concentración: 500 nM – 1,8 pM) en tampón de PBS que contiene Tween 20 0,03 % (Sigma) a bio-VEGF165 0,4 nM y se incuba durante 15 min. Posteriormente se añaden VEGFR1-Fc (1 nM) y perlas aceptoras recubiertas con VHH anti-Fc (20 µg/ml) y esta mezcla se incuba durante 1 hora en oscuridad. Finalmente, se añaden perlas donantes de estreptavidina (20 µg/ml) y después de una hora de incubación en oscuridad, se mide la fluorescencia en el lector de microplacas Envision. Se muestran curvas de respuesta a dosis en la Figura 4. Los valores de CI_{50} y % de inhibición para VHH que bloquean la interacción VEGF165 humano – VEGFR1-Fc humano se resumen en la Tabla 8.

Tabla 8: Valores de CI_{50} (nM) para VHH en AlphaScreen de competición de hVEGF165/hVEGFR1-Fc

VHH ID	CI_{50} (nM)	% de inhibición
VEGFBII23B04	0,9	41
VEGFBII23A06	0,4	46
VEGFBII24C04	0,2	53
Ranibizumab	3,3	79

5.5. Determinación de la afinidad de la interacción VEGF165 humano – VHH

La cinética de unión de VHH VEGFBII23B04 con hVEGF165 se analiza por SPR en un instrumento Biacore T100. Se inmoviliza VEGF165 humano recombinante directamente en una microplaca CM5 mediante acoplamiento de amina (usando EDC y NHS). Los VHH se analizan a diferentes concentraciones entre 10 y 360 nM. Se inyectan muestras durante 2 min y se permite que se disocien hasta 20 min a un caudal de 45 µl/min. Entre inyecciones de muestra, la superficie de la microplaca se regenera con HCl 100 mM. Se usa HBS-EP+ (tampón Hepes pH 7,4 + EDTA) como tampón de ejecución. Las curvas de unión se ajustan usando un modelo de Reacción de Dos Estados mediante el Software de Evaluación Biacore T100 v2.0.1. Las afinidades calculadas de los VHH anti-VEGF se enumeran en la Tabla 9.

Tabla 9: K_D de afinidad (nM) de VHH purificados para VEGF165 humano recombinante

VEGF165							
VHH ID	k_a ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)	k_{a1} ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)	k_{a2} ($M^{-1} \cdot s^{-1}$)	k_d (s^{-1})	k_{d1} (s^{-1})	k_{d2} (s^{-1})	K_D (nM)
VEGFBII23B04 ^(a)	-	2,1E+05	1,4E-02	-	8,6E-03	2,4E-04	0,7
VEGFBII23A06 ^(a)	-	4,2E+05	2,0E-02	-	5,7E-02	1,0E-04	0,7
VEGFBII24C04 ^(a)	-	3,2E+05	1,8E-02	-	2,6E-02	9,6E-05	0,4

^(a) Curva de unión heterogénea que no da como resultado ajuste 1:1; las curvas se ajustan usando un modelo de Reacción de Dos Estados mediante Software de Evaluación Biacore T100 v2.0.1.

5.6. Unión a VEGF164 de ratón

La reactividad cruzada con VEGF164 de ratón se determina usando un ELISA de unión. Brevemente, se reviste una placa MaxiSorp de 96 pocillos (Nunc, Wiesbaden, Alemania) con VEGF164 de ratón recombinante (R&D Systems Minneapolis, MS, Estados Unidos) durante una noche a 4 °C a 1 µg/ml. Los pocillos se bloquean con una solución de caseína (1 % en PBS). Se aplican VHH como serie de diluciones (intervalo de concentración: 500 mM - 32 pM) en tampón de PBS que contiene caseína al 0,1 % y Tween 20 0,05 % (Sigma) y la unión se detecta usando un anti-myc de ratón (Roche) y un conjugado de HRP anti-ratón (DAKO) y una reacción enzimática posterior en presencia del sustrato TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) (Pierce, Rockford, IL, Estados Unidos) (Figura 5). Se incluye un mAb sensible a VEGF164 de ratón como un control positivo. Como referencia, también se mide la unión a VEGF165 humano. Los valores de CE_{50} se resumen en la Tabla 10.

Tabla 10: Valores de CE_{50} (pM) para VHH en un ELISA de unión de VEGF165 humano recombinante y VEGF164 de ratón

	rhVEGF165	rmVEGF164
VHH ID	CE_{50} (pM)	CE_{50} (pM)
VEGFBII23B04	297	NB
VEGFBII24C04	453	NB
VEGFBII23A06	531	NB

NB, sin unión

5.7. Unión con VEGF121

La unión con VEGF121 humano recombinante se evalúa mediante un ELISA de unión de fase sólida. Brevemente, se reviste una placa MaxiSorp de 96 pocillos (Nunc, Wiesbaden, Alemania) con VEGF121 humano recombinante (R&D Systems Minneapolis, MS, Estados Unidos) durante una noche a 4 °C a 1 µg/ml. Los pocillos se bloquean con una solución de caseína (1 % en PBS). Los VHH se aplican como serie de dilución (intervalo de concentración: 500 mM - 32 pM) en tampón de PBS que contiene caseína 0,1 % y Tween 20 0,05 % (Sigma) y la unión se detecta usando un anti-myc de ratón (Roche) y un conjugado de HRP anti-ratón (DAKO) y una reacción enzimática posterior en presencia del sustrato TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) (Pierce, Rockford, IL, Estados Unidos) (Figura 6). Como control positivo se añaden diluciones en serie del VEGFR2. Los valores de CE_{50} se resumen en la Tabla 11.

Tabla 11: Valores de CE₅₀ (pM) para VHH monovalentes en un ELISA de unión de VEGF121 humano recombinante

VHH ID	CE ₅₀ (pM)
VEGFBII23B04	510
VEGFBII24C04	792
VEGFBII23A06	928

5.8. Unión con miembros de la familia VEGF VEGFB, VEGFC, VEGFD y PIGF

La unión a VEGFB, VEGFC, VEGFD y PIGF se evalúa mediante un ELISA de unión de fase sólida. Brevemente, se reviste una placa MaxiSorp de 96 pocillos (Nunc, Wiesbaden, Alemania) con VEGFB, VEGFC, VEGFD y PIGF (R&D Systems, Minneapolis, MS, Estados Unidos) durante una noche a 4 °C a 1 µg/ml. Los pocillos se bloquean con una solución de caseína (1 % en PBS). Se aplican VHH como serie de diluciones (intervalo de concentración 500 nM - 32 pM) y la unión se detecta usando un anti-myc de ratón (Roche) y un conjugado de AP anti-ratón (Sigma, St. Louis, MO, Estados Unidos). Como controles positivos se toman diluciones en serie de los receptores apropiados y se detectan con anticuerpo específico de Fc anti-IgG humana de cabra conjugado con peroxidasa de rábano rusticano (HPR) (Jackson Immuno Research Laboratories Inc., West Grove, PA, Estados Unidos) y una reacción enzimática posterior en presencia del sustrato TMB (3,3',5,5'-tetrametilbenzidina) (Pierce, Rockford, IL, Estados Unidos). Las curvas de respuesta a dosis de VHH y controles se muestran en la Figura 7. Los resultados muestran que no hubo unión detectable de los VHH seleccionados con VEGFB, VEGFC, VEGFD o PIGF

5.9. Clasificación de epítomos

Se realizan experimentos de clasificación de epítomos basados en Biacore para investigar qué agentes de unión de VEGF se unen a un epítomo similar o solapante como VEGFBII23B04. Para este fin, simboliza VEGFBII23B04 en una microplaca sensora CM5. Para cada muestra, se pasa VEGF165 humano sobre la superficie de la microplaca y se captura de forma reversible por VEGFBII23B04. Se inyectan después VHH purificados (100 nM) o extractos periplásmicos (diluidos 1/10) con un tiempo de contacto de superficie de 240 segundos y un caudal de 10 µl/minuto. Entre diferentes muestras, la superficie se regenera con tampón de regeneración (HCl 100 mM). Las curvas procesadas se evalúan con software de Evaluación Biacore T100. Los VHH podrían dividirse dentro de dos grupos: el grupo uno que proporciona unión adicional a VEGF165 capturado en VEGFBII23B04 y un segundo grupo que no es capaz de unirse simultáneamente a VEGF165 capturado en VEGFBII23B04. La Tabla 12-A resume los epítomos de unión de los VHH ensayados.

La misma preparación de ensayos se usa para evaluar si VEGFR1, VEGFR2, Ranibizumab y Bevacizumab son capaces de unirse a VEGF-165 humano simultáneamente con VEGFBII23B04. La Tabla 12-B presenta las respuestas de unión adicionales a VEGF165 capturado en VEGFBII23B04. Sólo VEGFR2 no es capaz de unirse a VEGF165 capturado en VEGFBII23B04, lo que subraya la capacidad de bloqueo de VEGFBII23B04 para la interacción VEGF-VEGFR2. Además, estos datos muestran que el epítomo de VEGFBII23B04 es diferente del epítomo de Bevacizumab y Ranibizumab.

Tabla 12-A: Clasificación de epítomos de VHH anti-VEGF, unión simultánea con VEGFBII23B04

Unión adicional baja o nula con VEGF165* capturado en 23B04	1C02 86G10 88H01	1E07 86G11 89B04	4B08 87B07 89D04	8E07 88A01 89F09	8F07 88A02 89G09	12A07 88B02 89H08	12B01 88E02 24C04	86C11 88G03 23A6	86F11 88G05 27G07	86G08 88G11 23B04
Unión adicional a VEGF165 capturado en 23B04	3D12 10G04	5B02 10G05	5B03 11C08	5B05 11D09	6G02 11E04	7D08 11E05	8D09 11F12	8F06 86H09	10C07 41C05	10E07

* indica epítomos iguales o solapantes

Tabla 12-B: Clasificación de epítomos de VEGFBII23B04: unión de inhibidores de punto de referencia o receptores afines en VEGF165 capturado en VEGFBII23B04

Etapas de inyección	Unión	[muestra]	Nivel de unión (UR)
1	VEGF165	100 nM	1727

Etapas de inyección	Unión	[muestra]	Nivel de unión (UR)
2	VEGFBII23B04	100 nM	-
3	Ranibizumab	100 nM	763
4	Bevacizumab	100 nM	1349
5	VEGFR1	100 nM	1011
6	VEGFR2	100 nM	-

5.10 Caracterización de los VHH anti-VEGF en el ensayo de proliferación de HUVEC

5 La potencia de los VHH seleccionados se evalúa en un ensayo de proliferación. Brevemente, a las células HUVEC primarias (Technoclone) se les priva del complemento durante una noche y después se siembran 4000 células/pocillo por cuadruplicado en placas de cultivo tisular de 96 pocillos. Las células se estimulan en ausencia o presencia de VHH con VEGF 33 ng/ml. Las tasas de proliferación se miden por incorporación de [³H] Timidina el día 4. Los resultados del ensayo de proliferación de HUVEC se muestran en la Tabla.

Tabla 13: Valores de CI₅₀ (nM) y % de inhibición de VEGFBII23B04, VEGFBII23A06 y VEGFBII24C04 monovalentes en ensayos de proliferación de HUVEC VEGF.

VHH ID	CI ₅₀ (nM)	% de inhibición
VEGFBII23B04	0,36	91
Bevacizumab	0,21	92

10

VHH ID	CI ₅₀ (nM)	% de inhibición
VEGFBII23A06	4,29	73
VEGFBII24C04	3,8	79
Bevacizumab	0,78	78

5.11 Caracterización de los VHH anti-VEGF en el ensayo de fosforilación de Erk de HUVEC

15 La potencia de los VHH seleccionados se evalúa en el ensayo de fosforilación de Erk de HUVEC. Brevemente, se les priva de suero a células HUVEC primarias durante una noche y después se estimulan en ausencia o presencia de VHH con VEGF 10 ng/ml durante 5 minutos. Las células se fijan con formaldehído 4 % en PBS y los niveles de fosforilación de ERK se miden por ELISA usando anticuerpos específicos de fosfoERK (anti-fosfoMAP Quinasa pERK1&2, M8159, Sigma) y conjugado de HRP-Inmunoglobulina Anti-Ratón de Conejo policlonal (PO161, Dako). Como se muestra en la Tabla 14, VEGFBII23B04 y Bevacizumab inhiben la fosforilación de Erk inducida por VEGF en al menos 90 %, con CI₅₀ <1 nM.

20 Tabla 14: Valores de CI₅₀ (nM) y % de inhibición de VEGFBII23B04 monovalente en ensayo de fosforilación de Erk de HUVEC VEGF

VHH ID	CI ₅₀ (nM)	% de inhibición
VEGFBII23B04	0,37	90
Bevacizumab	0,63	98

Ejemplo 6

Generación de VHH de bloqueo anti-VEGF multivalentes

25 El VHH VEGFBII23B04 se fusiona genéticamente con uno de los VEGFBII23B04 dando como resultado un VHH homodimérico (secuencia de aminoácidos véase Tabla 15) o diferentes VHH de unión a VEGF dando como

- 5 resultado VHH heterodiméricos. Para generar los VHH heterodiméricos se enlaza un panel de 10 VHH de unión a VEGF únicos mediante un enlazador flexible de 9 ó 40 Gly-Ser en dos orientaciones diferentes con VEGFBII23B04 (secuencias de aminoácidos véase Tabla 15). VEGFBII23B04 homodiméricos (VEGFBII010) y los 40 VHH bivalentes heterodiméricos se expresan en *E. coli* TG1 como proteínas marcadas con His6, c-myc. La expresión se induce por adición de IPTG 1 mM y se permite que continúe durante 4 horas a 37 °C. Después de centrifugar los cultivos celulares, se preparan extractos periplásmicos por congelación-descongelación de los sedimentos. Estos extractos se usan como material de partida y los VHH se purifican mediante IMAC y desalación dando como resultado el 90 % de pureza según se evalúa median SDS-PAGE.

Tabla 15: ID de secuencia, VHH ID y secuencia de aminoácidos de VHH anti-VEGF bivalentes (cada uno de los enlazadores usados se resalta en una secuencia relevante)

[illegible]

[illegible]

ID de secuencia/SEQ ID NO:	VHH ID	Secuencia de aminoácidos
VEGBII23B04-40GS-6G02/142		EVQLVESGGGLVQGTGDSLRSLSCVEVSGRTFSSYMGWFRQAQGEREFVAISKGGYKYDSVSL EGRTISKDNKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGG GGSGGGSGGG CAASGIFSNAMAWYRQAPGKQRELVARISGGGGFTYLDVSKGRFTVSRDIAKNTVYLQMN SLKPEDTAVYYCAAYRTNYWGQGTQVTVSS
VEGBII23B04-40GS-10E07/143	VEGBII023	EVQLVESGGGLVQGTGDSLRSLSCVEVSGRTFSSYMGWFRQAQGEREFVAISKGGYKYDSVSL EGRTISKDNKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGG GGSGGGSGGG CAASGRTFSNYAMGWFRQAPGKERVLADISSGINTYVADAVKGRFTISRDNIAKNTVYLQMNS LKPEDTAVYYCAASAWWYSQMARDNYRWGQGTQVTVSS
VEGBII23B04-40GS-12B01/144		EVQLVESGGGLVQGTGDSLRSLSCVEVSGRTFSSYMGWFRQAQGEREFVAISKGGYKYDSVSL EGRTISKDNKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGG GGSGGGSGGG CAASGFTLSSWYMWVRQAPGKLEWVSRISPGGLFTYYVDSVKGRFSVSTDNANNTLYLQMN SLKPEDTALYSCAKGGAPNYTPRGRGTQVTVSS
VEGBII23B04-40GS-86C11/145		EVQLVESGGGLVQGTGDSLRSLSCVEVSGRTFSSYMGWFRQAQGEREFVAISKGGYKYDSVSL EGRTISKDNKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGG GGSGGGSGGG CTASGRTFSYAMGWFRQAPGKERESVAHINRSGSSTYYADSVKGRFTISRDNIAKNTVYLQNLN LKPEDTAVYYCAAGRYSSDGVPSAFNYWGQGTQVTVSS
VEGBII23B04-40GS-86H09/146	VEGBII024	EVQLVESGGGLVQGTGDSLRSLSCVEVSGRTFSSYMGWFRQAQGEREFVAISKGGYKYDSVSL EGRTISKDNKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGG GGSGGGSGGG CTASGSFAKSYRMGWFRRTPGKEDEFVASISWYTGSTFYADSVKGRFTMSRDKAKNAGYLQMN SLKPEDTALYYCAAGAQSRYNIRSYDYWGQGTQVTVSS
VEGBII23B04-40GS-87B07/147		EVQLVESGGGLVQGTGDSLRSLSCVEVSGRTFSSYMGWFRQAQGEREFVAISKGGYKYDSVSL EGRTISKDNKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGQGTQVTVSSGG GGSGGGSGGG CTASGFTFSTSWMHVWRQAPGKLEWVSSIPPVGHFANYAPSVKGRFTISRDNIAKNTLYLQMN SLKSEDVAVYYCAKDSAGRTKGGGTQVTVSS

[illegible]

[illegible]

ID de secuencia/SEQ ID NO:	VHH ID	Secuencia de aminoácidos
VEGBII10E07-40GS-23B04/163	VEGBII025	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSNYAMGWFRQAPGKERVLAADISSGINTYVADAVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASAWWYSQARDNRYWGGGTQVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGEREFVVAISKGGYKYDSVLSLEGRFTISKDNKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGGTQVTVSS
VEGBII12B01-40GS-23B04/164		EVQLVESGGGLVQPGGSLRLACAAAGFTLSSWMYVVRQAPGKGLEWVSRISPGLFTYYVDSVKGRFVSVDNANNNTLYLQMNSLKPEDTALYSYCAKAGPNYPRGRGTQVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSYSYMGWFRQAQGEREFVVAISKGGYKYDSVLSLEGRFTISKDNKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGGTQVTVSS
VEGBII86C11-40GS-23B04/165		EVQLVESGGGLVQAGDSLRSLSCASGRTFNSYAMGWFRQAPGKERESVAHINRSGSSTYYADSVKGRFTISRDNKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCAAGRYSSDGVPSASFNYWGGGTQVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGEREFVVAISKGGYKYDSVLSLEGRFTISKDNKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGGTQVTVSS
VEGBII86H09-40GS-23B04/166		EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCASGSFAKSYRMGMWFRRTPGKEDEFVASISWTVYGSTFYADSVKGRFTMSRDKAKNAGYLQMNSLKPEDTALYYCAAGAQRNIRSYDYWGGGTQVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGEREFVVAISKGGYKYDSVLSLEGRFTISKDNKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGGTQVTVSS
VEGBII87B07-40GS-23B04/167		EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCTASGFTFTSWMHWVRQAPGKGLEWVSSIPVGHFANYAPSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLKSEDVAVYYCAKDSAGRTKGQTQVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGEREFVVAISKGGYKYDSVLSLEGRFTISKDNKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGGTQVTVSS
VEGBII88A01-40GS-23B04/168		EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASERTFSNYAMDWFRQAPGKEREFVAALTRSGGTYVADSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAATRSSTIVGVGMWYWGKGTQVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQTGDSLRLSCEVSGRTFSSYSMGWFRQAQGEREFVVAISKGGYKYDSVLSLEGRFTISKDNKNTVYLQINSLKPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGGTQVTVSS

El panel de 40 VHH bivalentes se ensaya en el ensayo AlphaScreen que bloquea VEGFR2 y VEGFR1, como se describe en el Ejemplo 5.3 y 5.4, respectivamente. Basándose en la potencia y nivel máximo de inhibición, los 5 mejores VHH bivalentes (VEGFBII021, VEGFBII022, VEGFBII023, VEGFBII024 y VEGFBII025) se seleccionan para caracterización adicional. Se muestra una visión de conjunto de los resultados de la exploración para los 5 VHH bivalentes seleccionados en el AlphaScreen de VEGFR2 y VEGFR1 competitivo en la Tabla 16.

Tabla 16: Potencia y eficacia de los 5 mejores VHH bivalentes en el ensayo AlphaScreen de competición de VEGF/VEGFR1 y VEGF/VEGFR2

VHH ID	VEGFR2	VEGFR1	
		Cl ₅₀ (pM)	% de inhibición
VEGFBII021	9	16	100
VEGFBII022	7	8	100
VEGFBII023	38	44	91
VEGFBII024	12	46	100
VEGFBII025	51	39	82

Ejemplo 7

10 Caracterización de VHH anti-VEGF formateados

Se comparan los VHH VEGFBII010, VEGFBII021, VEGFBII022, VEGFBII023, VEGFBII024 y VEGFBII025 en paralelo en el ELISA de bloqueo de VEGFR2 y VEGFR1 (Figura 8 y 9, Tabla 17 y Tabla 18 respectivamente) y ensayo AlphaScreen (Figura 10 y 11, Tabla 19 y 20) como se ha descrito en los Ejemplos 5.1, 5.2, 5.3 y 5.4, respectivamente.

15 Tabla 17: Valores de Cl₅₀ (pM) y % de inhibición para VHH formateado en ELISA de competición de hVEGF165/hVEGFR2-Fc

VHH ID	Cl ₅₀ (pM)	% de inhibición
VEGFBII010	49	100
VEGFBII021	204	100
VEGFBII022	164	100
VEGFBII023	213	100
VEGFBII024	292	100
VEGFBII025	577	100
Bevacizumab	315	100
Ranibizumab	349	100

Tabla 18: Valores de Cl₅₀ (pM) y % de inhibición para VHH formateado en ELISA de competición de VEGF165/hVEGFR1-Fc

VHH ID	Cl ₅₀ (pM)	% de inhibición
VEGFBII010	73,5	67
VEGFBII021	254	97
VEGFBII022	225	89
VEGFBII023	279	91

VHH ID	Cl ₅₀ (pM)	% de inhibición
VEGFBII024	326	92
VEGFBII025	735	91
Bevacizumab	484	91
Ranibizumab	594	96

Tabla 19: Valores de Cl₅₀ (pM) y % de inhibición para VHH formateado en AlphaScreen de competición de hVEGF165/hVEGFR2-Fc

VHH ID	Cl ₅₀ (pM)	% de inhibición
VEGFBII010	16	100
VEGFBII021	7	100
VEGFBII022	7	100
VEGFBII023	46	100
VEGFBII024	50	100
VEGFBII025	51	100
Ranibizumab	600	100

5 Tabla 20: Valores de Cl₅₀ (pM) y % de inhibición de VHH formateado en AlphaScreen de competición de VEGF165/hVEGFR1-Fc

VHH ID	Cl ₅₀ (pM)	% de inhibición
VEGFBII010	21	70
VEGFBII021	12	100
VEGFBII022	9	98
VEGFBII023	48	87
VEGFBII024	69	98
VEGFBII025	71	82
Ranibizumab	1300	87

Además, los VHH formateados también se ensayaron con respecto a su capacidad para bloquear la interacción de mVEGF164/mVEGFR2-huFc. Brevemente, se añaden diluciones en serie de VHH purificados (intervalo de concentración: 4 μ M – 14,5 pM) en tampón PBS que contiene Tween 20 0,03 % (Sigma) a mVEGF164 biotinilado 0,1 nM y se incuban durante 15 min. Posteriormente se añaden VEGFR2-huFc de ratón (0,1 nM) y perlas aceptoras revestidas con VHH anti-huFc (20 μ g/ml) y esta mezcla se incuba durante 1 hora. Finalmente, se añaden perlas donantes de estreptavidina (20 μ g/ml) y después de 1 hora de incubación se mide la fluorescencia en el lector de microplacas Envision. Se muestran curvas de respuesta a dosis en la Figura 12. Los valores de Cl₅₀ para VHH que bloquean la interacción de VEGF164/VEGFR2-hFc de ratón se resumen en la Tabla 21.

Tabla 21: Valores de Cl₅₀ (pM) y % de inhibición para VHH formateado en AlphaScreen de competición de mVEGF164/mVEGFR2-hFc

VHH ID	Cl ₅₀ (pM)	% de inhibición
VEGFBII022	108	100

VHH ID	CI ₅₀ (pM)	% de inhibición
VEGFBII024	-	-
mVEGF164	0,05	100
Ranibizumab	-	-

Los VHH formateados también se ensayan en ELISA con respecto a su capacidad para unirse a mVEGF164 y VEGF165 humano (Ejemplo 5.6; Figura 13; Tabla 22); VEGF121 (Ejemplo 5.7; Figura 15; Tabla 23) y los miembros de la familia de VEGF VEGFB, VEGFC, VEGFD y PIGF (Ejemplo 5.8; Figura 14). La cinética de unión con respecto a VEGF165 humano se analiza como se ha descrito en el Ejemplo 5.5. Los valores de K_D se enumeran en la Tabla 24.

5

Tabla 22: Valores de CE₅₀ (pM) para VHH formateado en ELISA de unión de VEGF165 humano recombinante y VEGF164 de ratón

	rhVEGF165	rmVEGF164
VHH ID	CE ₅₀ (pM)	CE ₅₀ (pM)
VEGFBII010	428	-
VEGFBII021	334	502
VEGFBII022	224	464
VEGFBII023	221	-
VEGFBII024	320	-
VEGFBII025	668	-

Tabla 23: Valores de CE₅₀ (pM) para VHH formateado en un ELISA de unión de VEGF121 humano recombinante

	rhVEGF121
VHH ID	CE ₅₀ (pM)
VEGFBII010	920
VEGFBII022	540
VEGFBII024	325
VEGFBII025	475

10

Tabla 24: K_D de afinidad (nM) de VHH formateado purificados para VEGF165 humano recombinante

VHH ID	k _{a1} (1/Ms)	k _{d1} (1/s)	k _{a2} (1/s)	k _{d2} (1/s)	K _D (nM) ^(a)
VEGFBII010 ^(b)	4,5E+05	1,7E-02	2,9E-02	1,3E-04	0,16
VEGFBII021 ^(b)	1,2E+06	1,1E-02	2,3E-02	1,9E-04	0,07
VEGFBII022 ^(b)	1,2E+06	9,1E-03	1,4E-02	2,6E-04	0,14
VEGFBII023 ^(b)	3,0E+05	1,8E-02	2,4E-02	2,7E-04	0,69
VEGFBII024 ^(b)	3,0E+05	1,3E-02	2,6E-02	2,8E-04	0,47
VEGFBII025 ^(b)	3,3E+05	1,7E-02	1,8E-02	3,7E-04	1,1

^(a) $K_D = k_{d1}/k_{a1} * (k_{d2}/(k_{d2} + k_{a2}))$

^(b) Se ajustan las curvas usando un modelo de Reacción de Dos Estados mediante Software de Evaluación de

Biacore T100 v2.0.1.

Los VHH VEGFBII010, VEGFBII022, VEGFBII024 y VEGFBII025 también se ensayan en el ensayo de proliferación de fosforilación de Erk y HUVEC mediada por VEGF.

- 5 La potencia de los VHH formateados seleccionados se evalúa en un ensayo de proliferación. Brevemente, se les priva a células HUVEC primarias (Technoclone) de complemento durante una noche y después se siembran a 4000 células/pocillo por cuadruplicado en placas de cultivo tisular de 96 pocillos. Las células se estimulan en ausencia o presencia de VHH con VEGF 33 ng/ml. Las tasas de proliferación se miden por incorporación de [³H] Timidina el día 4. Los resultados mostrados en la Tabla 25 demuestran que los VHH formateados y Bevacizumab inhiben la proliferación de HUVEC inducida por VEGF en más de 90 % con $CI_{50} < 1nM$.

- 10 Tabla 25: Valores de CI_{50} (nM) y % de inhibición de VHH formateado en ensayo de proliferación de HUVEC de VEGF

VHH ID	CI_{50} (nM)	% de inhibición
VEGFBII010	0,22	95
VEGFBII021	0,40	98
VEGFBII022	0,34	100
VEGFBII023	0,52	98
VEGFBII024	0,38	96
VEGFBII025	0,41	104
Bevacizumab	0.21	92

- 15 La potencia de los VHH formateados seleccionados se evalúa en el ensayo de fosforilación de Erk de HUVEC. Brevemente, a las células HUVEC primarias se les priva de suero durante una noche y después se estimulan en ausencia o presencia de VHH con VEGF 10 ng/ml durante 5 minutos. Las células se fijan con Formaldehído 4 % en PBS y los niveles de fosforilación de ERK se miden por ELISA usando anticuerpos específicos de fosfoERK (pERK1&2 anti-fosfoMAP quinasa, M8159, Sigma) y conjugado de HRP-Inmunoglobulina Anti-Ratón de Conejo policlonal (PO161, Dako). Como se muestra en la Tabla 26, los VHH formateados y Bevacizumab inhiben la fosforilación de Erk inducida por VEGF en más del 90 %, con $CI_{50} < 1 nM$.

- 20 Tabla 26: Valores de CI_{50} (nM) y % de inhibición de VHH formateado en ensayo de fosforilación de Erk de HUVEC de VEGF

VHH ID	CI_{50} (nM)	% de inhibición
VEGFBII010	0,19	92
VEGFBII021	0,21	103
VEGFBII022	0,18	94
VEGFBII023	0,25	100
VEGFBII024	0,23	94
VEGFBII025	0,23	99
Bevacizumab	0,63	98

Ejemplo 8

Optimización de secuencias

8.1. Optimización de secuencia de VEGFBII23B04

- 25 La secuencia de aminoácidos de VEGFBII23B04 se alinea con la secuencia de línea germinal humana VH3-23/JH5, véase Figura 16 (SEQ ID NO: 179).

El alineamiento muestra que VEGFBII23B04 contiene 19 mutaciones marco en relación con la secuencia de línea

- 5 germinal de referencia. Los restos no humanos en las posiciones 14, 16, 23, 24, 41, 71, 82, 83 y 108 se seleccionan para sustitución con sus homólogos de línea germinal humana. Se genera un conjunto de 8 variantes de VEGFBII23B04 que portan diferentes combinaciones de restos humanos en estas posiciones (las secuencias de aminoácidos se enumeran en la Tabla 27). Se construye una variante adicional en la que el sitio de isomerización potencial en la posición D59S60 (región CDR2, véase Figura 16, indicada como restos en negrita y cursiva) se retira por introducción de una mutación S60A.

Tabla 27: Secuencia de aminoácidos de variantes con secuencia optimizada de VHH VEGFBI23B04 (FR, marco; CDR, región determinante de complementariedad)

VHH ID/ SEQ ID NO:	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBI 111D05/47	EVQLVESGGGLVQTGG SLRLSCEASGRIFS	SYSMG	WFRQAPGKEREF VV	AIKGGYKY DSVSLEG	RFTISRDNAKNTVYLQ INSLRPEDTAVYYCA	SRAYGSSRL RLADTYEY	WGQGTLLTVSS
VEGFBI 111G06/48	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCEASGRIFS	SYSMG	WFRQAPGKEREF VV	AIKGGYKY DSVSLEG	RFTISRDNAKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCA S	SRAYGSSRL RLADTYEY	WGQGTLLTVSS
VEGFBI 112D11/49	EVQLVESGGGLVQPGG SLRLSCEASGRIFS	SYSMG	WFRQAPGKEREF VV	AIKGGYKY DSVSLEG	RFTISRDNAKNTVYLQ INSLRPEDTAVYYCA	SRAYGSSRL RLADTYEY	WGQGTLLTVSS
VEGFBI 113A08/50	EVQLVESGGGLVQTGG SLRLSCEVSGRIFS	SYSMG	WFRQAPGKEREF VV	AIKGGYKY DSVSLEG	RFTISKDNAKNTVYLQ INSLRPEDTAVYYCA	SRAYGSSRL RLADTYEY	WGQGTLLTVSS
VEGFBI 113E03/51	EVQLVESGGGLVQTGD SLRLSCEVSGRIFS	SYSMG	WFRQAQGKEREF VV	AIKGGYKY DSVSLEG	RFTISKDNAKNTVYLQ MNSLRPEDTAVYYCA S	SRAYGSSRL RLADTYEY	WGQGTLLTVSS
VEGFBI 114C09/52	EVQLVESGGGLVQPGD SLRLSCEVSGRIFS	SYSMG	WFRQAPGKEREF VV	AIKGGYKY DSVSLEG	RFTISKDNAKNTVYLQ INSLRPEDTAVYYCA	SRAYGSSRL RLADTYEY	WGQGTLLTVSS
VEGFBI 114D02/53	EVQLVESGGGLVQTGG SLRLSCEVSGRIFS	SYSMG	WFRQAPGKEREF VV	AIKGGYKY DSVSLEG	RFTISRDNAKNTVYLQ INSLRPEDTAVYYCA	SRAYGSSRL RLADTYEY	WGQGTLLTVSS
VEGFBI 114D03/54	EVQLVESGGGLVQTGD SLRLSCAVSGRIFS	SYSMG	WFRQAQGKEREF VV	AIKGGYKY DSVSLEG	RFTISKDNAKNTVYLQ INSLRPEDTAVYYCA	SRAYGSSRL RLADTYEY	WGQGTLLTVSS
VEGFBI 118E10/55	EVQLVESGGGLVQTGD SLRLSCEVSGRIFS	SYSMG	WFRQAQGKEREF VV	AIKGGYKY DAVSLEG	RFTISKDNAKNTVYLQ INSLKPEDTAVYYCA	SRAYGSSRL RLADTYEY	WGQGTQVTVSS

Estas variantes se caracterizan como proteínas purificadas en el AlphaScreen de VEGF165/VEGFR2 (Ejemplo 5.3, Figura 17). La temperatura de fusión (T_m) de cada clon se determina en un ensayo de desplazamiento térmico, que se basa en el aumento de la señal de fluorescencia tras la incorporación de Naranja Sypro (Invitrogen) (Ericsson *et al*, Anal. Biochem. 357 (2006), pp 289-298). Todas las variantes presentaron Cl_{50} comparables en comparación con VEGFBII23B04 y valores de T_m que son similares o más altos cuando se comparan con el VEGFBII23B04 precursor. La Tabla 28 resume los valores de Cl_{50} y los valores de T_m a pH 7 para los 9 clones ensayados.

Tabla 28: Valores de Cl_{50} (pM), % de inhibición y temperatura de fusión (a pH 7) de variantes con secuencia optimizada de VEGFBII23B04

VHH ID	Cl_{50} (pM)	% de inhibición	T_m a pH 7 (°C)
VEGFBII23B04 (wt)	169	100	63
VEGFBII111D05	209	100	68
VEGFBII111G06	366	100	71
VEGFBII112D11	221	100	70
VEGFBII113A08	253	100	69
VEGFBII113E03	290	100	68
VEGFBII114C09	215	100	71
VEGFBII114D02	199	100	74
VEGFBII114D03	227	100	64
VEGFBII118E10	189	100	62

En un segundo ciclo, se combinan mutaciones toleradas del esfuerzo de humanización (VEGFBII111G06) y mutaciones para evitar posible modificación postraducciona en sitios seleccionados (la D16G, la sustitución S60A y una mutación E1D) dando como resultado un clon con secuencia optimizada derivado de VEGFBII23B04: VEGFBII0037. Se anticipa una variante con secuencia optimizada extra (VEGFBII038) que contiene las mismas sustituciones que VEGFBII0037, con la excepción de la mutación I82M, puesto que esta mutación puede estar asociada con una reducción menor de la potencia. Las secuencias de ambos clones con secuencia optimizada se enumeran en la Tabla 29. VEGFBII0037 y VEGFBII0038 se caracterizan en el AlphaScreen de bloqueo de VEGF165/VEGFR2 (Ejemplo 5.3, Figura 18), la temperatura de fusión se determina en el ensayo de desplazamiento térmico como se ha descrito anteriormente y la afinidad de unión en VEGF165 se determina en Biacore (Ejemplo 5.5). Una visión de conjunto de las características de los 2 VHH con secuencia optimizada se presenta en la Tabla 30.

Tabla 29: Secuencias de aminoácidos de las variantes con secuencia optimizada de VHH VEGFBII23B04

VHH ID/SEQ ID NO:	FR 1	CDR 1	FR2	CDR 2	FR3	CDR 3	FR 4
VEGFBII037 56	DVQLVES GGGLVQ PGGSLRL SCAASG RTFS	SYSM G	WFRQ APGK EREFV V	AISKGGY KYDAVSL EG	RFTISRDNA KNTVYLQM NSLRPEDTA VYYCAS	SRAYGSS RLRLADT YEY	WGQGT LTVSS
VEGFBII038 57	DVQLVES GGGLVQ PGGSLRL SCAASG RTFS	SYSM G	WFRQ APGK EREFV V	AISKGGY KYDAVSL EG	RFTISRDNA KNTVYLQIN SLRPEDTAV YYCAS	SRAYGSS RLRLADT YEY	WGQGT LTVSS

Tabla 30: Valores de Cl_{50} (pM), % de inhibición, temperatura de fusión (a pH 7) y afinidad (pM) de los clones con secuencia optimizada VEGFBII037 y VEGFBII038

VHH ID	Cl_{50} (pM)	% de inhibición	T_m a pH 7 (°C)	K_D (pM)
VEGFBII23B04	152	100	63	560
VEGFBII037	300	100	72	270
VEGFBII038	143	100	71	360

8.2. Optimización de secuencia de VEGFBII5B05

- 5 La secuencia de aminoácidos de VEGFBII5B05 se alinea con la secuencia de línea germinal VH3-23/JH5, véase Figura 19 (SEQ ID NO: 179). El alineamiento muestra que VEGFBII5B05 contiene 15 mutaciones marco en relación con la secuencia de línea germinal de referencia. Se seleccionan restos no humanos en las posiciones 23, 60, 83, 105, 108 para sustitución con sus homólogos de línea germinal humana mientras que la histidina en la posición 44 se selecciona para sustitución por glutamina. Se construye una variante de humanización que porta las 6 mutaciones descritas (la secuencia de aminoácidos se enumera en la Tabla 31).

Tabla 31: Secuencias de aminoácidos de variantes con secuencia optimizada de VHH VEGFBII5B05 (FR, marco; CDR, región determinante de complementariedad)

VHH ID/SEQ ID NO:	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII119G11/125	EVQLVESGG GLVQPGGSL RLSCAASGIR FM	SMA	WYRQAP GKQRELV A	RISSGGTT AYADSVK G	RFTISRDN KNTVYLQM NSLRAEDTA VYYCNT	FSSRPN P	WGQGT TVSS
VEGFBII120E10/126	EVQLVESGG GLVQPGGSL RLSCVASGIR FI	SMA	WYRQAP GKHRELV A	RISSGGTT AYVDSVK G	RFTISRDN KNTVYLQM NSLKAEDTA VYYCNT	FSSRPN P	WGAGTQ VTSS

- 15 Se construye una variante adicional en la que el sitio de oxidación potencial en la posición M30 (región CDR1, véase Figura 19 indicada como resto en cursiva y negrita) se retira por introducción de una mutación M30I. Ambas variantes se ensayan con respecto a su capacidad para unirse a hVEGF165 usando el ProteOn. Brevemente, una microplaca Sensora ProteOn GLC se reviste con VEGF165 humano. Se diluyen extractos periplásmicos de las variantes 1/10 y se inyectan a través de la microplaca revestida con VEGF165 humano. Las tasas de disociación se calculan y se comparan con las tasas de disociación del VEGFBII5B05 precursor. Las tasas de disociación de las 2 variantes están en el mismo intervalo que las tasas de disociación de VEGFBII5B05 precursor lo que indica que se toleran todas las mutaciones (Tabla 32).

Tabla 32: Variantes con secuencia optimizada de tasas de disociación de VEGFBII5B05

VHH ID	nivel de unión (UR)	k_d (1/s)
VEGFBII5B05	242	6,15E-02
VEGFBII119G11	234	7,75E-02
VEGFBII120E10	257	4,68E-02

- 25 En un segundo ciclo, se combinan mutaciones del intento de humanización y la sustitución M30I dando como resultado un clon con secuencia optimizada de VEGFBII5B05, designado VEGFBII032. La secuencia se enumera en la Tabla 33. La afinidad de VEGFBII032 se determina por Biacore (véase Ejemplo 5.5) y la temperatura de fusión se determina en el ensayo de desplazamiento térmico como se ha descrito anteriormente. Se presenta una visión de conjunto de las características del VHH VEGFBII032 con secuencia optimizada en la Tabla 34.

Tabla 33: Secuencias de aminoácidos del clon con secuencia optimizada VEGFBII032 (FR, marco; CDR, región determinante de complementariedad)

VHH ID SEQ ID NO:	FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR3	CDR3	FR4
VEGFBII032/127	EVQLVES GGGLVQP GGSLRLS CAASGIRFI	SMA	WYRQAP GKQREL V A	RISSG GTTA YADS VKG	RFTISRDN SK NTVYLQMNS LRAEDTAVY YCNT	FSSR PNP	WGQGT LTVSS

Tabla 34: Temperatura de fusión (a pH 7) y afinidad (nM) del clon con secuencia optimizada VEGFBII032

VHH ID	T _m (°C) a pH 7	K _D (nM)
VEGFBII5B05(wt)	69	32
VEGFBII0032	71	44

5

La potencia de los clones con secuencia optimizada VEGFBII037 y VEGFBII038 se evalúa en un ensayo de proliferación. Brevemente, se priva de complemento a células HUVEC primarias (Technoclone) durante una noche y después se siembran 4000 células/pocillo por cuadruplicado en placas de cultivo tisular de 96 pocillos. Las células se estimulan en ausencia o presencia de VHH con VEGF 33 ng/ml. Las tasas de proliferación se miden por incorporación de [³H] Timidina el día 4. Los resultados mostrados en la Tabla 35, demuestran que la actividad (potencia y grado de inhibición) del VHH precursor VEGFBII23B04 se conservan en el clon con secuencia optimizada VEGFBII038.

10

Tabla 35: Valores de Cl₅₀ (nM) y % de inhibición de los clones con secuencia optimizada VEGFBII037 y VEGFBII038 en el ensayo de proliferación de HUVEC VEGF

VHH ID	Cl ₅₀ (nM)	% de inhibición
VEGFBII23B04	0,68	92
VEGFBII037	1,54	78
VEGFBII038	0,60	92
Bevacizumab	0,29	94

15

Ejemplo 9

Construcción, producción y caracterización de VHH bivalentes que se dirigen a Ang2

Los VHH 1D01 (SEQ ID NO: 214), 11B07, 00908 y 00027 (SEQ ID NO: 216) se fusionan genéticamente con 1D01 (SEQ ID NO: 214), 11B07, 00908 y 00027 (SEQ ID NO: 216), respectivamente, dando como resultado VHH homodiméricos. Los VHH bivalentes se enlazan mediante un enlazador flexible 9-GlySer o 40-GlySer. Las secuencias de ADN codificantes del VHH formateado se clonan en el vector de expresión pAX172. Los VHH se expresan en *Pichia pastoris* como proteínas marcadas con His6 – myc c-terminal. Brevemente, se inician cultivos de BGCM a partir de una estría de colonia sencilla incubada durante el fin de semana a 30 °C (250 rpm). Después de cambio de medio a BMCM, los cultivos se incuban hasta la noche a 30 °C (250 rpm) y seguido de una inducción con metanol 100 %. Al día siguiente los cultivos se inducen 3 veces más (mañana, tarde, noche). Al día siguiente los cultivos se centrifugan durante 20 min a 4 °C (1.500 xg). Los VHH marcados con His6 presentes en el sobrenadante se purifican a través de cromatografía de afinidad metálica inmovilizada (IMAC) seguido de desalación (DS) y finalmente filtración en gel (GF) para retirar cualquier endotoxina/impureza. Se representa una visión de conjunto del formato y secuencia de todos los VHH bivalentes en la Figura 20 y Tabla 36-A (secuencias enlazadoras subrayadas), SEQ ID NO: 180-185. Los niveles de expresión se indican en la Tabla 36-B.

20

25

30

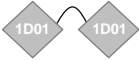


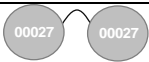
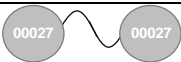
Para explorar las propiedades de bloqueo anti-Ang2 en comparación con los componentes básicos monovalentes, los VHH bivalentes se analizan en un ELISA de competición de Ang2 humano/hTie2 (Figura 21-1), Ang2 de ratón/Tie2 (Figura 21-2), Ang2 de mono cynomolgus /cTie2 (Figura 21-3) y Ang1 humano/hTie2 (Figura 22). Se muestra un compendio de valores de Cl₅₀ en la Tabla 37.

35

Tabla 36-A

Secuencias de VHH bivalente que se dirige a Ang2	
VHH ID	Secuencia de aminoácidos
ANGBII00001	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCIRCS DGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVY LQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSSG GGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCIRC SDGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVY LQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQ GTLTVTVSS (SEQ ID NO: 180)
ANGBII00002	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCIRCS DGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVY LQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSSG GGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLR LSCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCIRCS DGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVY LQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 181)
ANGBII00003	EVQLVESGGGLVQVGD SLRLSCAASGRTFSTYLMVGWFRQAPGKEREF AAGIWSSGDTAYADSVRGRFTISRDN AKNTVY LQMNSLKTEDTAVYYCAGSYDGNYYIPGFYKDWGQGTLVTVSSGG GSGGGSEVQLVESGGGLVQVGD SLRLSCAASGRTFSTYLMVGWFRQAPGKEREF AAGIWS GDTAYADSVRGRFTISRDN AKNTVY LQMNSLKTEDTAVYYCAGSYDGNYYIPGFYKDWGQG TLVTVSS (SEQ ID NO: 182)
ANGBII00004	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDY AIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVY LQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTL VTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDY AIGWFRQAPGKEREG VSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVY LQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQW YPLYEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 183)
ANGBII00005	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDY AIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVY LQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTL VTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQ AGGSLRLSCAASGFTLDDY AIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDK NTVY LQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 184)
ANGBII00006	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGITLDDY AIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVY LQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRYGEQWYPIY EYDAWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGITLDDY AIGWFRQAPGKEREGVSS IRDNGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVY LQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRYGEQWYPI YEYDAWGQGTLVTVSS (SEQ ID NO: 185)

Tabla 36-B

VHH ID	Formato	Expresión (mg/l)
ANGBII00001		31
ANGBII00002		37
ANGBII00003		28
ANGBII00004		651
ANGBII00005		203

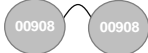










VHH ID	Formato	Expresión (mg/l)
ANGBII00006		3

Tabla 37: Valores de Cl_{50} (pM) en ELISA de competición de Ang2 humano/Tie2, Ang2 de ratón/Tie2 de ratón, Ang2 de mono cynomolgus/Tie2 de mono cynomolgus y hAng1/hTie2

		hAng2	mAng2	cAng2	relación hAng1/hAng2
VHH ID	Formato	Cl_{50} (pM)	Cl_{50} (pM)	Cl_{50} (pM)	
1D01		6.973	10.455	9.484	>10.800
ANGBII00001		11	18	27	n.d.
ANGBII00002		20	32	n.d.	n.d.
11B07		15.205	10.000	16.400	> 8.570
ANGBII00003		24	47	35	n.d.
00027		541	1.785	568	>14.878
ANGBII00004		17	33	34	n.d.
ANGBII00005		13	32	n.d.	n.d.
00908		52	85	79	>192.014
ANGBII00006		19	28	25	6.052.631
AMG386		4	3	10	5.600

n.d., no determinado

5 Ejemplo 10





Construcción, producción y caracterización de VHH biespecíficos trivalentes que se dirigen a VEGF y Ang2 usando albúmina antisuero como extensión de semivida.

El VHH anti-VEGF VEGFBII00038 (documento US 2011/0172398 A1) y el VHH anti-Ang2 00027 (SEQ ID NO: 216) se usan como componentes básicos para generar VHH biespecíficos VEGFANGBII00001-00004. Se usa una fusión genética con una albúmina de suero que se une a VHH como una metodología de extensión de semivida. Los componentes básicos se enlazan mediante un enlazador flexible de triple Ala o 9 Gly-Ser. Se producen VHH y se purifican como se ha descrito en el Ejemplo 9. Se representa una visión de conjunto del formato y secuencia de los cuatro VHH biespecíficos en la Figura 23 y Tabla 37-A (secuencias enlazadoras subrayadas), SEQ ID NO: 186-189. Los niveles de expresión se indican en la Tabla 38-B.

Tabla 38-A

Secuencias de VHH biespecíficos que se dirigen a VEGF y Ang2	
VHH ID	Secuencia de aminoácidos
VEGFANGBII00001	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 186)
VEGFANGBII00002	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTLTVTVSSGGGGSGGGSDVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 187)
VEGFANGBII00003	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSDVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTLTVTVSS (SEQ ID NO: 188)
VEGFANGBII00004	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSAAAEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTLTVTVSSAAAEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 189)


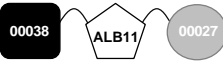


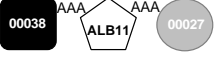
Tabla 38-B

VHH ID	Formato	Expresión (mg/l)
VEGFANGBII00001		13,3
VEGFANGBII00002		11,3
VEGFANGBII00003		15,4
VEGFANGBII00004		19,2

- 5 Para explorar las propiedades de bloqueo anti-VEGF en comparación con el componente básico monovalente VEGFBII00038, los cuatro VHH biespecíficos se analizan en el AlphaScreen de competición VEGF/VEGFR2-Fc (Figura 22). El ensayo se ajusta ligeramente en comparación con el Ejemplo 12.3 descrito en la Patente de Estados Unidos 2011/0172398 A1. Se añaden tanto VEGF165 humano como VEGFR2-Fc humano a 0,05 nM. Este ensayo de competición también se realiza después de preincubación del VHH con albúmina de suero humano 25 μ M. Se






muestra un compendio de valores de CI_{50} y % de inhibición en la Tabla 39.

Tabla 39: Valores de CI_{50} (nM) en AlphaScreen de competición de VEGF165 humano/VEGFR2 humano.

VHH ID	Formato	HSA	CI_{50} (nM)	% de inhibición
VEGFBII00038		-	0,5	100
		+	0,5	100
VEGFANGBII00001		-	0,4	100
		+	0,6	100
VEGFANGBII00002		-	0,7	100
		+	1,2	100
VEGFANGBII00003		-	0,6	100
		+	1,3	100
VEGFANGBII00004		-	0,5	100
		+	0,7	100
Ranibizumab		-	0,8	100
		+	1,1	100

- 5 Para explorar las propiedades de bloqueo anti-Ang2 en comparación con el componente básico monovalente 00027 (SEQ ID NO: 216), los cuatro VHH biespecíficos se analizan en un ELISA de competición de Ang2/hTie2-Fc humano (Figura 25). Este ensayo también se realiza después de incubación del VHH con albúmina de suero humano 0,5 μ M. Se muestra un compendio valores de CI_{50} en la Tabla 40.

Tabla 40: Valores de CI_{50} (pM) en ELISA de competición de Ang2 humano/Tie2 humano.

VHH ID	Formato	HSA	CI_{50} (pM)
00027		-	516
		+	n.d.
VEGFANGBII00001		-	240
		+	179
VEGFANGBII00002		-	463
		+	330
VEGFANGBII00003		-	273
		+	154
VEGFANGBII00004		-	111
		+	92
AMG386		-	2
		+	n.d.

n.d., no determinado

Ejemplo 11

Construcción, producción y caracterización de VHH biespecíficos trivalentes y tetravalentes que se dirigen a VEGF y Ang2 usando unión anti-albúmina de suero como extensión de la semivida

- 5 Se construyen diez VHH biespecíficos que se dirigen a VEGF y Ang2 (VEGFANGBII00005-00015). En estas construcciones se incluyen componentes básicos anti-Ang2 1D01 monovalente y bivalente (SEQ ID NO: 214), 7G08 monovalente y bivalente (SEQ ID NO: 215) y 00027 bivalente (SEQ ID NO: 216). Se usa una fusión genética con una albúmina de suero que se une a VHH como metodología de extensión de la semivida. Los componentes básicos se enlazan mediante un enlazador flexible 9 Gly-Ser. Se producen VHH y se purifican como se ha descrito en el Ejemplo 8. Se representa una visión de conjunto del formato y secuencia de los diez VHH biespecíficos en la Figura 26 y Tabla 41-A (secuencias enlazadoras subrayadas), SEQ ID NO: 190-199. Se indican los niveles de expresión en la Tabla 41-B.


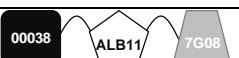
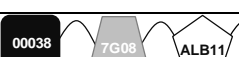
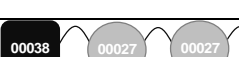



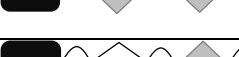


Tabla 41-A

Secuencias de VHH biespecífico que se dirige a VEGF y Ang2	
VHH ID	Secuencia de aminoácidos
VEGFANGBII00005	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAI SKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSS RLRLADTYEYWGGQTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFALDYAIGWFRQVPGKEREGVSCISSSDGITYYVDSVKGRFTISR NAKNTVYLQMNLSKPEDTAVYYCATDSGGYIDYDCMGLGYDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQ APGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTTLYLQMNLSKPEDT AVYYCTIGGSLRSSQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 190)
VEGFANGBII00006	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAI SKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSS RLRLADTYEYWGGQTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRL SCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISR DNKNTTLYLQMNLSKPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFALDYAIGWFRQVPGKEREGVSCIS SSDGITYYVDSVKGRFTISRDNKNTVYLQMNLSKPEDTAVYYCATDSGGYID YDCMGLGYDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 191)
VEGFANGBII00007	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAI SKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSS RLRLADTYEYWGGQTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRL SCAASGFALDYAIGWFRQVPGKEREGVSCISSSDGITYYVDSVKGRFTISR NAKNTVYLQMNLSKPEDTAVYYCATDSGGYIDYDCMGLGYDYWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQ APGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTTLYLQMNLSKPEDT AVYYCTIGGSLRSSQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLR LSCAASGFALDYAIGWFRQVPGKEREGVSCISSSDGITYYVDSVKGRFTISR DNKNTVYLQMNLSKPEDTAVYYCATDSGGYIDYDCMGLGYDYWGQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 192)
VEGFANGBII00008	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAI SKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSS RLRLADTYEYWGGQTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRL SCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISS DNDKNTVYLQMNLSKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQ GT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIG WFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNLSK PEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGT LVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVS SISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKNTTLYLQMNLSKPEDTAVYYCTIGGSL RSSQGT LVTVSS (SEQ ID NO: 193)

Secuencias de VHH biespecífico que se dirige a VEGF y Ang2	
VHH ID	Secuencia de aminoácidos
VEGFANGBII00009	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAI SKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSS RLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRL SCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISR DNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVTVSSGGGGSGGGG EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIR DNDGSTYYADSVKGRFTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRL RFGEQWYPLYEYDAWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAG GSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGR FTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAW GQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 194)
VEGFANGBII00010	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAI SKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSS RLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRL SCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGRFTISS DNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGL TLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMS WVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLR PEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQA GGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSSIRDNDGSTYYADSVKGR FTISSDNDKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAW WGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 195)
VEGFANGBII00011	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAI SKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSS RLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRL SCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCIRCSGSGSTYYADSVKGRFTISS DNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGLTVTVSS GGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAAG KEREGVSCIRCSGSGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAV YYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGL VQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYAD SVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVTVSS (SEQ ID NO: 196)
VEGFANGBII00012	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAI SKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSS RLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRL SCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISR DNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLTVTVSSGGGGSGGGG EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCI RCSDGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRS KLEPYEYDAWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLS CAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCIRCSGSGSTYYADSVKGRFTISSD NAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 197)
VEGFANGBII00013	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAI SKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSS RLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRL SCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCIRCSGSGSTYYADSVKGRFTISS DNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGLTVTVSS GGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAP GKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNKTTLYLQMNSLRPEDTAVY YCTIGGSLSRSSQGTLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLS CAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCIRCSGSGSTYYADSVKGRFTISSD NAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 198)





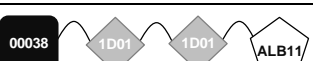
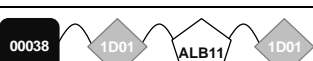
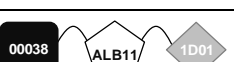
Secuencias de VHH biespecífico que se dirige a VEGF y Ang2	
VHH ID	Secuencia de aminoácidos
VEGFANGBII00014	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAI SKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNAKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSS RLRLADTYEYWGGQTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRL SCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISR DNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLVTVSSGGGGSGGGGS EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAAGKEREGVSCI RCSDGSTYYADSVKGRFTISSDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAASIVPRS KLEPYEYDAWGQGTTLVTVSS (SEQ ID NO: 199)

Tabla 41-B

VHH ID	Formato	Expresión (mg/l)
VEGFANGBII00005		1,3
VEGFANGBII00006		1,3
VEGFANGBII00007		0,3
VEGFANGBII00008		30,0
VEGFANGBII00009		71,4
VEGFANGBII00010		25,0
VEGFANGBII00011		4,0
VEGFANGBII00012		6,6
VEGFANGBII00013		2,9
VEGFANGBII00014		45,6

Para explorar las propiedades de bloqueo anti-VEGF en comparación con el componente básico monovalente VEGFII00038, los diez VHH biespecíficos se analizan en el AlphaScreen de competición de VEGF/VEGFR2-Fc (Ejemplo 10; Figura 27-1) y VEGF/VEGFR1 (Figura 27-2). El ensayo de VEGFR1 se ajusta ligeramente en comparación con el Ejemplo 12.4 como se describe en la Patente de Estados Unidos 2011/0172398 A1. Se añade VEGF165 humano y VEGFR1-Fc humano a 0,05 nM. Estos ensayos de competición también se realizan después de preincubación del VHH con albúmina de suero humano 25 μ M. Se muestra un compendio de valores de CI_{50} en la Tabla 42.



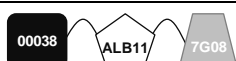


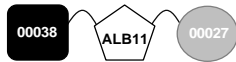




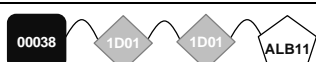
Tabla 42: Valores de Cl_{50} (nM) en AlphaScreen de competición de VEGF165 humano/VEGFR2 humano y de VEGF165 humano/VEGFR1 humano

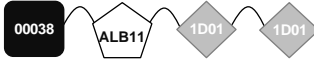

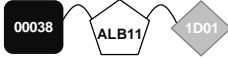
VHH ID	Formato	HSA	VEGFR1		VEGFR2	
			Cl_{50} (nM)	% inh	Cl_{50} (nM)	% inh
VEGFBII00038		-	0,6	67	0,5	100
		+	0,6	64	0,5	100
VEGFANGBII00005		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00006		-	0,8	64	1,0	100
		+	1,0	71	1,4	100
VEGFANGBII00007		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00008		-	0,6	77	0,3	100
		+	0,7	73	0,4	100
VEGFANGBII00009		-	0,8	71	0,4	100
		+	1,5	72	0,7	100
VEGFANGBII00010		-	0,5	72	0,3	100
		+	1,1	78	0,7	100
VEGFANGBII00001		-	0,6	68	0,4	100
		+	0,8	76	0,6	100
VEGFANGBII00011		-	0,8	74	0,9	100
		+	2,5	81	0,8	100
VEGFANGBII00012		-	1,0	74	0,4	100
		+	1,5	80	0,7	100
VEGFANGBII00013		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00014		-	0,8	69	0,4	100
		+	1,0	80	0,7	100
Ranibizumab		-	2,5	92	1,2	100
		+	5,3	86	1,1	100

n.d., no determinado

Para explorar las propiedades de bloqueo anti-Ang2 en comparación con su componente básico monovalente respectivo 7G08 (SEQ ID NO: 215), 1D01 (SEQ ID NO: 214) y 00027 (SEQ ID NO: 216), los diez VHH biespecíficos se analizan en el ELISA de competición de Ang2 humano/hTie2-Fc (véase Ejemplo 5.1; Figura 28-1), Ang2 de ratón/mTie2-Fc (véase Ejemplo 5.2; Figura 28-2) y Ang2 de mono cynomolgus/cTie2-Fc (véase Ejemplo 5.2; Figura 28-3). El ensayo humano también se realiza después de incubación del VHH con albúmina de suero humano 0,5 μ M. Adicionalmente, se realiza un ensayo de supervivencia de HUVEC mediada por hAng2 (véase Ejemplo 5.5; Figura 29). Se muestra un compendio de valores de Cl_{50} y % de inhibición en la Tabla 43.

Tabla 43: Valores de Cl_{50} (pM) y % de inhibición en ELISA de competición de Ang2 humano/hTie2 humano, Ang2 de ratón/Tie2 de ratón y Ang2 de mono cynomolgus/Tie2 de mono cynomolgus y valores de Cl_{50} (nM) y % de inhibición en supervivencia de HUVEC mediada por hAng2.

			hAng2		mAng2		cAng2		supervivencia de HUVEC	
VHH ID	Formato	HSA	Cl ₅₀ (pM)	% de inh.	Cl ₅₀ (pM)	% de inh.	Cl ₅₀ (pM)	% de inh.	Cl ₅₀ (nM)	% de inh.
7G08		+	110	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,5	100
		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00005		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00006		-	560	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	4,9	100
		+	400	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00007		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
AMG386		-	5	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,2	100
		+	4	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
00027		-	540	100	1.800	100	570	100	2,0	100
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00001		-	360	100	1.300	100	390	100	5,7	100
		+	290	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00008		-	47	100	71	100	79	100	5,6	100
		+	52	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00009		-	33	100	36	100	46	100	3,6	100
		+	39	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00010		-	32	100	78	100	59	100	n.d.	n.d.
		+	49	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
AMG386		-	5	100	4	100	3	100	1,3	100
		+	4	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
1D01		-	7.000	100	10.000	100	9.500	100	7,8	100
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00011		-	31	100	56	100	95	100	3,7	100
		+	34	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

			hAng2		mAng2		cAng2		supervivencia de HUVEC	
VHH ID	Formato	HSA	Cl ₅₀ (pM)	% de inh.	Cl ₅₀ (pM)	% de inh.	Cl ₅₀ (pM)	% de inh.	Cl ₅₀ (nM)	% de inh.
VEGFANGBII00012		-	40	100	68	100	100	100	3,6	100
		+	65	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00013		-	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00014		-	710	100	1.000	100	1.100	100	n.d.	n.d.
		+	1.200	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
AMG386		-	4	100	4	100	10	100	1,3	
		+	4	100	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d., no determinado

Se han determinado las afinidades para albúmina de suero humano y se muestran en la Tabla 44. Brevemente, se inmoviliza albúmina de suero humano (Sigma, St Louis, MO, Estados Unidos) en una microplaca CM5 mediante acoplamiento de aminas. Se usa un enfoque cinético multiciclo: se inyectan concentraciones crecientes de VHH (2-8-31-125-500 nM) y se permite que se asocien durante 2 min y se disocian durante 10 min a un caudal de 100 $\mu\text{l}/\text{min}$. Entre inyecciones de VHH, las superficies se regeneran con un pulso de 10 s de Glicina-HCl 10 mM pH 1,5 y periodo de estabilización de 60 s. Los datos de asociación/disociación se evalúan ajustando un modelo de interacción 1:1 (unión de Langmuir) o modelo de Ligando Heterogéneo. La constante de afinidad K_D se calcula a partir de las constantes de tasa de asociación y disociación resultantes k_a y k_d (Tabla 44).

Tabla 44: K_D de afinidad de VHH purificados para albúmina de suero humano (HSA), mono cynomolgus (CSA) y de ratón (MSA)

	HSA			CSA			MSA		
	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)	k_a (1/Ms)	k_d (1/s)	K_D (nM)
ALB11	4,5E+05	1,8E-03	4	4,3E+05	1,6E-03	4	6,6E+05	3,2E-02	49
VEGFANGBII00001	2,3E+05	4,8E-03	22	1,8E+05	4,3E-03	24	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00005	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00006	2,0E+05	4,6E-03	22	1,5E+05	4,5E-03	30	1,7E+05	6,0E-02	360
VEGFANGBII00007	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00008	1,3E+05	4,3E-03	34	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00009	1,5E+05	4,6E-03	30	1,1E+05	4,2E-03	39	1,2E+05	4,0E-02	340
VEGFANGBII00010	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00011	1,3E+05	4,0E-03	31	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00012	1,5E+05	4,3E-03	31	1,2E+05	4,2E-03	24	1,0E+05	2,5E-02	240
VEGFANGBII00013	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00014	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.

n.d., no determinado

Ejemplo 12 (Este Ejemplo incluye realizaciones de la invención) Construcción, producción y caracterización de VHH biespecíficas con secuencia optimizada y afinidad madurada que se dirigen a VEGF y Ang2 usando unión con anti albúmina de suero como extensión de la semivida.

Se construyen 14 VHH biespecíficos que se dirigen a VEGF y Ang2 (VEGFANGBII00015-00028). En estas construcciones se incluyen componentes básicos anti-Ang2 bivalente 00921 (un variante de 1D01 con secuencia optimizada) (SEQ ID NO: 220), VHH monovalentes 00908 – 00932 – 00933 – 00934 – 00935 – 00936 – 00937 – 00938 (variantes de 28D10 con secuencia optimizada/afinidad madura) (SEQ ID NO: 222), bivalente 00956 (SEQ ID NO: 223) (variante de 28D10 con secuencia optimizada) y monovalente 00928 (SEQ ID NO: 221) (variante de 37F02 con secuencia optimizada). Se usa una fusión genética con una albúmina de suero que se une a VHH como metodología de extensión de la semivida. Los componentes básicos se enlazan mediante un enlazador flexible 9 Gly-Ser. Se representa una visión de conjunto del formato y secuencia de los 14 VHH biespecíficos en la Figura 30 y Tabla 45-A (secuencias del enlazador subrayadas), SEQ ID NO: 200-213. Los niveles de expresión se indican en la Tabla 45-B.

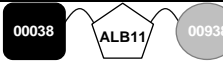
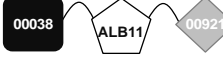
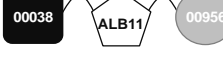
Tabla 45-A

Secuencias de VHH biespecífico que se dirige a VEGF y Ang2	
VHH ID	Secuencia de aminoácidos
VEGFANGBII00015	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVV AISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAY GSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGN SLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGLTVTVSSGGG <u>GSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGITLDDYAIGWFRQAPGKE</u> REGVSSIRDNGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYY CAAVPAGRLRYGEQWYPIEYDAWGQGLTVTVSS (SEQ ID NO: 200)
VEGFANGBII00016	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVV AISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAY GSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGN SLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGLTVTVSSGGG <u>GSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGITLDDYAIGWFRQAPGKE</u> REGVSSIRDNGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYY CAAVPAGRLRYGEQWYPIEYDAWGQGLTVTVSS SEQ ID NO: 201)
VEGFANGBII00017	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVV AISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAY GSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGN SLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGLTVTVSSGGG <u>GSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGITLDDYAIGWFRQAPGKE</u> REGVSAIRDNGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYY CAAVPAGRLRYGEQWYPIEYDAWGQGLTVTVSS SEQ ID NO: 202)
VEGFANGBII00018	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVV AISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAY GSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGN SLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGLTVTVSSGGG <u>GSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGITLDDYAIGWFRQAPGKE</u> REGVSAIRESGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYY CAAVPAGRLRYGEQWYPIEYDAWGQGLTVTVSS SEQ ID NO: 203)
VEGFANGBII00019	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVV AISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAY GSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGN SLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGLTVTVSSGGG <u>GSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGITLDDYAIGWFRQAPGKE</u> REGVSAIRSSGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYY CAAVPAGRLRYGEQWYPIEYDAWGQGLTVTVSS SEQ ID NO: 204)
VEGFANGBII00020	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVV AISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAY GSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGN SLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKG RFTISRDNKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGLTVTVSSGGG <u>GSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGITLDDYAIGWFRQAPGKE</u> REGVSAIRDNGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYY CAAVPAGRLRYGEQWYPIEYDAWGQGLTVTVSS SEQ ID NO: 205)

Secuencias de VHH biespecífico que se dirige a VEGF y Ang2	
VHH ID	Secuencia de aminoácidos
VEGFANGBII00021	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNANTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGITLDDYAIGWFRQAPGKE REGVSAIRESGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRYGEQWYPIEYDAWGQGTTLTVTVSS SEQ ID NO: 206)
VEGFANGBII00022 Realización de la invención	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNANTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGITLDDYAIGWFRQAPGKE REGVSAIRSSGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRYGEQWYPIEYDAWGQGTTLTVTVSS SEQ ID NO: 207)
VEGFANGBII00023	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNANTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKE REGVSAIRDNGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTTLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRDNGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTTLTVTVSS SEQ ID NO: 208)
VEGFANGBII00024	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNANTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRDNGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTTLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRDNGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGTTLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLTVTVSS SEQ ID NO: 209)
VEGFANGBII00025	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRFTFSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNANTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLRSSQGTTLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAPGKEREGVSCIRCSGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTTLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAPGKEREGVSCIRCSGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGTTLTVTVSS SEQ ID NO: 210)



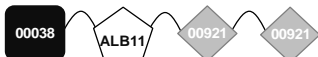
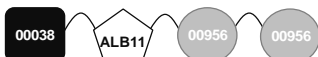
Secuencias de VHH biespecífico que se dirige a VEGF y Ang2	
VHH ID	Secuencia de aminoácidos
VEGFANGBII00026	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNANKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAPGKEREGVSCIRCSGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFDDYALGWFRQAPGKEREGVSCIRCSGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAASIVPRSKLEPYEYDAWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSS SEQ ID NO: 211)
VEGFANGBII00027	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNANKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFALDYAIGWFRQAPGKE REGVSCISSSGGITYYADSVKGRFTISRDNANKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCATDSSGGYIDYDCSLGYDYWGQGLTVTVSS SEQ ID NO: 212)
VEGFANGBII00028	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRTFSSYSMGWFRQAPGKEREFVVAISKGGYKYDAVSLEGRFTISRDNANKNTVYLQINSLRPEDTAVYYCASSRAYGSSRLRLADTYEYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKE REGVSAIRSSGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDDYAIGWFRQAPGKEREGVSAIRSSGGSTYYADSVKGRFTISSDNSKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCAAVPAGRLRFGEQWYPLYEYDAWGQGLTVTVSS SEQ ID NO: 213)

Tabla 45-B

VHH ID	Formato	Expresión (mg/l)
VEGFANGBII00022		
VEGFANGBII00025		
VEGFANGBII00028		

- 5 Para explorar las propiedades de bloqueo anti-VEGF en comparación con el componente básico monovalente VEGFBII00038, los VHH biespecíficos se analizan en el AlphaScreen de competición de VEGF/VEGFR2-Fc (Ejemplo 10; Figura 31-1) y VEGF/VEGFR1 (Ejemplo 11; Figura 31-2). Estos ensayos de competición también se realizan después de preincubación del VHH con albúmina de suero humano 25 μ M. Se muestra un compendio de los valores de CI_{50} en la Tabla 46-A.

Tabla 46-A Valores de Cl_{50} (nM) en AlphaScreen de competición de VEGF165 humano/VEGFR2 humano y VEGF165 humano/VEGFR1 humano

VHH ID	Formato	HSA	VEGFR1		VEGFR2	
			Cl_{50} (nM)	% de inh.	Cl_{50} (nM)	% de inh.
VEGFBII00038		-	0,4	57	0,2	100
		+	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
VEGFANGBII00022		-	0,4	64	0,2	100
		+	0,6	75	0,3	100
VEGFANGBII00025		-	0,6	68	0,2	100
		+	0,9	75	0,3	100
VEGFANGBII00028		-	0,5	64	0,2	100
		+	0,5	64	0,2	100
Ranibizumab		-	3,2	97	0,7	100
		+	n.d.	n.d.	0,9	100

n.d., no determinado

- 5 Se analiza la cinética de unión de los VHH biespecíficos en VEGF165 humano por SPR en un instrumento Biacore T100 (véase Ejemplo 12.5 descrito en la Patente de Estados Unidos 2011/0172398 A1). Se añade Nanobody monovalente VEGFBII00038 como referencia (Tabla 46-B).

Tabla 46-B: Visión de conjunto de los parámetros cinéticos en ensayo de Biacore de hVEGF165.

	k_{a1} (1/Ms)	k_{d1} (1/s)	k_{a2} (1/s)	k_{d2} (1/s)	$KD1$ (M)
VEGFBII00038	2,6E+05	1,3E-02	1,3E-02	1,9E-04	7,5E-10
VEGFANGBII00022	1,6E+05	1,4E-02	1,4E-02	2,2E-04	1,4E-09
VEGFANGBII00025	1,1E+05	1,4E-02	1,4E-02	2,1E-04	1,9E-09
VEGFANGBII00028	1,7E+05	1,3E-02	1,3E-02	2,1E-04	1,1E-09

- 10 La capacidad de los VHH para unirse a la isoforma humana VEGF121 se determina en un ELISA de unión. La unión de una serie de dilución de VHH a VEGF121 humano recubierto directamente 1 μ g/ml (R&D) (VEGF165 humano como referencia) se detecta usando un 1A4 anti-VHH biotinilado seguido de extravidina-HRP. 1A4 es un VHH anti-VHH (generado de forma interna por Ablynx NV). El Avastin de punto de referencia actúa como control positivo y se detecta usando un anticuerpo anti-Fc humano conjugado con HRP. Un VHH irrelevante actúa como control negativo.
- 15 Se muestran curvas de respuesta a unión representativas en VEGF165 y VEGF121 en la Figura 46, los valores correspondientes de CE_{50} se resumen en la Tabla 46-C.

Tabla 46-C: Visión en conjunto de valores de CE_{50} en ELISA de unión de hVEGF165 y hVEGF121.

	hVEGF165	hVEGF121
	CE_{50} (M)	CE_{50} (M)
VEGFANGBII00022	1,4E-09	2,3E-09
VEGFANGBII00025	1,5E-09	2,5E-09







	hVEGF165	hVEGF121
	CE_{50} (M)	CE_{50} (M)
VEGFANGBII00028	1,2E-09	2,1E-09

La unión con VEGF164 de rata y de ratón se evalúa en un ELISA de unión. Los VHH que se unen a VEGF164 de rata o murino recubierto directamente 1 µg/ml (R&D) se detectan usando 1A4 anti-VHH biotinilado seguido de extravidina-HRP. Como control positivo el anticuerpo monoclonal de reacción cruzada ratón/rata B20-4.1 (Genentech) se valora y se detecta con un anticuerpo anti-Fc humano conjugado con HRP. Un VHH irrelevante actúa como control negativo. Los resultados se muestran en la Figura 33. Ninguno de los 3 VHH biespecíficos reaccionan de forma cruzada con VEGF de ratón y de rata.

La unión con VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D y PIGF se evalúa mediante un ELISA de unión. La unión de los VHH con VEGF-B (R&D), VEGF-C (R&D), VEGF-D (R&D) y PIGF (R&D) recubierto directamente 1 µg/ml se detectó usando 1A4 anti-VHH biotinilado seguido de extravidina-HRP. Como controles positivos se añade una serie de diluciones de los receptores apropiados (hVEGFR1-Fc para hVEGF-B y hPIGF, hVEGFR2-Fc para hVEGF-C, mAb anti-hVEGF-D (R&D) para hVEGF-D). Un VHH irrelevante actúa como control negativo. Los resultados se muestran en la Figura 34. Ninguno de los 3 VHH biespecíficos se unen a miembros de la familia de VEGF.

Para explorar las propiedades de bloqueo anti-Ang2 en comparación con su componente básico monovalente respectivo 00921 (SEQ ID NO: 220) y 00938 (SEQ ID NO: 222), los 3 VHH biespecíficos se analizan en el ELISA de competición de Ang2 humano/hTie2-Fc (véase Ejemplo 5.1; Figura 35-1), Ang2 de ratón/mTie2-Fc (véase Ejemplo 5.2; Figura 35-2) y Ang2 de mono cynomolgus/cTie2-Fc (véase Ejemplo 5.2; Figura 35-3). El ensayo humano también se realiza después de incubación del VHH con albúmina de suero humano 0,5 µM. Adicionalmente, se ensayan VHH biespecíficos en el ELISA de competición de hAng1/hTie2 (véase Ejemplo 5.3; Figura 36) y el ensayo de supervivencia de HUVEC mediada por Ang2 (véase Ejemplo 5.5; Figura 37). Se muestra un compendio de los valores de CI_{50} y el % de inhibición en la Tabla 47-A.

Tabla 47-A: Valores de Cl_{50} (pM) en ELISA de competición de Ang2 humano/Tie2 humano, Ang2 de ratón/Tie2 de ratón y Ang2 de mono cynomolgus/ Tie2 de mono cynomolgus, ELISA de hAng1 y valores de Cl_{50} (nM) en ensayo de supervivencia de HUVEC mediada por hAng2

			ELISA								Supervivencia de HUVEC	
			Ang2		mAng2		cAng2		hAng1			
VHH ID	Formato	HSA	Cl ₅₀ (pM)	% de inh.	Cl ₅₀ (pM)	% de inh.	Cl ₅₀ (pM)	% de inh.	relación de Cl ₅₀ hAng1/hAng2	Cl ₅₀ (nM)	% de inh.	
00938		-	33	100	58	100	86	100	> 60.395	4,3	100	
VEGFANGBI00022		-	50	100	56	100	101	100	> 39.902	1,9	100	
		+	45	100	68	100	115	100	> 44.771			
AMG386		-	5	100	2	100	13	100	5.656	1,4	100	
00921		-	15.940	100	27.990	100	43.500	100	> 125	18,8	100	
VEGFANGBI00025		-	12	100	15	100	38	100	> 160.694	2,2	100	
		+	15	100	17	100	37	100	> 133.660			
AMG386		-	5	100	2	100	15	100	5.632	1,2	100	
00956		-	1.010	100	1.816	100	1.294	100	> 1.979	6,8	100	
VEGFANGBI00028		-	30	100	72	100	65	100	> 66.222	3,7	100	
		+	39	100	69	100	78	100	> 50.816			
AMG386		-	4	100	3	100	14	100	5.194	1,0	100	

n.d., no determinado

Las afinidades de VEGFANGBII00022-25-28 para Ang2 humano, de ratón, de mono cynomolgus y de rata (véase Ejemplo 5.4) se han determinado y se muestran en la Tabla 47-B.

Tabla 47-B: KD de afinidad de VHH purificados para Ang2 humano, de mono cynomolgus, de ratón y de rata recombinante

	Ang2-FLD humano			Ang2-FLD de mono cynomolgus		
	k_a	k_d	K_D	k_a	k_d	K_D
	(1/Ms)	(1/s)	(M)	(1/Ms)	(1/s)	(M)
VEGFANGBII00022	9,7E+05	1,5E-05	1,6E-11	1,5E+06	1,3E-05	8,1E-12
VEGFANGBII00025	2,7E+06	1,2E-02	4,5E-09	4,3E+06	1,1E-02	2,7E-09
VEGFANGBII00028	5,9E+05	9,6E-04	1,6E-09	8,4E+05	8,7E-04	1,0E-09

5

	Ang2-FLD de ratón			Ang2-FLD de rata		
	k_a	k_d	K_D	k_a	k_d	K_D
	(1/Ms)	(1/s)	(M)	(1/Ms)	(1/s)	(M)
VEGFANGBII00022	5,5E+05	2,8E-05	5,1E-11	3,9E+05	3,8E-05	9,9E-11
VEGFANGBII00025	1,3E+06	1,4E-02	1,1E-08	8,7E+05	2,9E-02	3,3E-08
VEGFANGBII00028	3,6E+05	2,0E-03	5,6E-09	2,5E+05	3,1E-03	1,2E-08

Se han determinado las afinidades de VEGFANGBII00022-25-28 para albúmina sérica humana, de ratón y de mono cynomolgus (Ejemplo 11) y se muestran en la Tabla 48. La constante de afinidad K_D se calcula a partir de las constantes de la velocidad de asociación y disociación resultantes k_a y k_d (Tabla 48).

10 Tabla 48: KD de afinidad de VHH purificados para albúmina sérica humana recombinante, de ratón y de mono cynomolgus usando (A) modelo de interacción 1:1 o (B) modelo de ligando heterogéneo

(A)	HSA			CSA			MSA		
	k_a	k_d	K_D	k_a	k_d	K_D	k_a	k_d	K_D
	(1/Ms)	(1/s)	(nM)	(1/Ms)	(1/s)	(nM)	(1/Ms)	(1/s)	(nM)
ALB11	5,6E+05	1,9E-03	4	4,5E+05	1,7E-03	4	5,9E+05	3,0E-02	51
VEGFANGBII00022	6,7E+05	6,0E-03	9	6,2E+05	5,4E-03	9	5,2E+05	5,4E-03	150
VEGFANGBII00025	5,6E+05	5,6E-03	12	4,3E+05	5,1E-03	12	-	-	-
VEGFANGBII00028	5,6E+05	5,8E-03	10	5,2E+05	5,3E-03	10	-	-	-

(B)	MSA					
	k_{a1}	k_{d1}	k_{a2}	k_{d2}	K_{D1}	K_{D2}
	(1/Ms)	(1/s)	(1/s)	(1/s)	(nM)	(nM)
VEGFANGBII00025	6,2E+05	9,9E-02	4,7E+04	5,7E-04	160 *	12
VEGFANGBII00028	5,9E+04	6,9E-04	5,7E+05	9,4E-02	12	160 *

* describe 70 % o más de la interacción

Componentes de unión a Ang2 (Tabla 53)

(1D01 (SEQ ID No: 214); 7G08 (SEQ ID No: 215); 027 (SEQ ID No: 216); 00042 (SEQ ID No: 217); 00050 (SEQ ID No: 218); 00045 (SEQ ID No: 219); 00921 (SEQ ID No: 220); 00928 (SEQ ID No: 221); 00938 (SEQ ID No: 222); 00956 (SEQ ID No: 223))				
FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR4
1D01	EVOLVEGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTFD	DYALG	WFRQAAGKREGVS	CIRCSDGSTYYADSVKG
7G08	EVOLVEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFALD	YYAIG	WFRQVPGKREGVS	CISSSDGITYYVDSVKG
027	EVOLVEGGGLVQAGGSLRLSCAASGFTLD	DYALG	WFRQAPGKREGVS	CIRSDSGSTYYADSVKG
FR3	CDR3			
1D01	RFTISSDNKNTVYLOMNSLRPEDTAVYYCAA	SIVPRSKLEPYEYDA		
7G08	RFTISRDNAKNTVYLOMNSLRPEDTAVYYCAT	DSGGYIDYDCMGLGYDY		
027	RFTISSDNKNTVYLOMNSLRPEDTAVYYCAA	VPAGRLRFGQWYPLYEYDA		
FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR4
00042	EVOLVEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLD	DYALG	WFRQAPGKREGVS	SIRDNDGSTYYADSVKG
00050	EVOLVEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFD	DYALG	WFRQAPGKREGVS	CIRCSDGSTYYADSVKG
00045	EVOLVEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFALD	YYAIG	WFRQAPGKREGVS	CISSSDGITYYADSVKG
FR3	CDR3			
00042	RFTISSDNKNTVYLOMNSLRPEDTAVYYCAA	VPAGRLRFGQWYPLYEYDA		
00050	RFTISSDNKNTVYLOMNSLRPEDTAVYYCAA	SIVPRSKLEPYEYDA		
00045	RFTISRDNSKNTVYLOMNSLRPEDTAVYYCAT	DSGGYIDYDCMGLGYDY		
FR1	CDR1	FR2	CDR2	FR4
00921	EVOLVEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFD	DYALG	WFRQAPGKREGVS	CIRCSDGSTYYADSVKG
00928	EVOLVEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFALD	YYAIG	WFRQAPGKREGVS	CISSSDGITYYADSVKG
00938	EVOLVEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLD	DYALG	WFRQAPGKREGVS	AIRSSDGSTYYADSVKG
00956	EVOLVEGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLD	DYALG	WFRQAPGKREGVS	AIRSSDGSTYYADSVKG
FR3	CDR3			
00921	RFTISSDNKNTVYLOMNSLRPEDTAVYYCAA	SIVPRSKLEPYEYDA		
00928	RFTISRDNSKNTVYLOMNSLRPEDTAVYYCAT	DSGGYIDYDCMGLGYDY		
00938	RFTISSDNKNTVYLOMNSLRPEDTAVYYCAA	VPAGRLRFGQWYPLYEYDA		
00956	RFTISSDNKNTVYLOMNSLRPEDTAVYYCAA	VPAGRLRFGQWYPLYEYDA		

Listado de secuencias

<110> Boehringer Ingelheim International GmbH

<120> MOLÉCULAS DE UNIÓN BIESPECÍFICAS QUE SE UNEN A VEGFY ANG2

<130> 12-0332-pct

5 <160> 275

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 17

<212> PRT

10 <213> Lama glama

<220>

<221> CARACT_MISC

<222> (5)..(5)

<223> Xaa puede ser Gly o Ala

15 <220>

<221> CARACT_MISC

<222> (7)..(7)

<223> Xaa puede ser Ser o Gly

<220>

20 <221> CARACT_MISC

<222> (12)..(12)

<223> Xaa puede ser Gly, Ala o Pro

<220>

<221> CARACT_MISC

25 <222> (13)..(13)

<223> Xaa puede ser Asp o Gly

<220>

<221> CARACT_MISC

<222> (16)..(16)

30 <223> Xaa puede ser Asp o Glu

<400> 1

Ser	Arg	Ala	Tyr	Xaa	Ser	Xaa	Arg	Leu	Arg	Leu	Xaa	Xaa	Thr	Tyr	Xaa
1				5					10					15	

Tyr

<210> 2

<211> 17

35 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 2

Ser	Arg	Ala	Tyr	Gly	Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Leu	Gly	Asp	Thr	Tyr	Asp
1				5					10					15	

Tyr

40

<210> 3

<211> 17

<212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 3
 Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Asp
 1 5 10 15

Tyr

<210> 4
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 4
 Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu
 1 5 10 15

Tyr

<210> 5
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 5
 Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Gly Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Asp
 1 5 10 15

Tyr

<210> 6
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 6
 Ser Arg Ala Tyr Ala Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Asp
 1 5 10 15

Tyr

<210> 7
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 7
 Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Pro Asp Thr Tyr Asp
 1 5 10 15

Tyr

<210> 8
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 8
 Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Pro Gly Thr Tyr Asp
 1 5 10 15

Tyr

<210> 9
 <211> 126

ES 2 606 302 T3

<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 9
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 10
<211> 125
<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 10
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Phe Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 11
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 11
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
 50 55 60
 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
 100 105 110
 Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

10 <210> 12
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 12

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Asn Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Gly Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 13

<211> 125

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 13

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Arg Thr Ser Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Ser Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu Gln
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Ala Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 14

<211> 125

ES 2 606 302 T3

<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 14
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu Gln
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 15
<211> 125
<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 15
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Phe Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 16
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 16
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Asn Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

10 <210> 17
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama
 <400> 17
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Gly Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
 50 55 60
 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Pro Asp Thr
 100 105 110
 Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

15

ES 2 606 302 T3

<210> 18
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 18
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 19
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

10 <400> 19
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

ES 2 606 302 T3

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Phe Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 20

<211> 125

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 20

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Glu Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Arg Thr Ser Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu Gln
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 21

<211> 126

<212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 21

Glu Met Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 22

<211> 126

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 22

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Asn Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Lys Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Gly Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 23
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 23
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
 50 55 60
 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
 100 105 110
 Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 24
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama

10 <400> 24
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Gly Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
 50 55 60
 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Pro Gly Thr
 100 105 110
 Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 25
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

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

<210> 26
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

10

ES 2 606 302 T3

<400> 26

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Gln Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Gly Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 27

<211> 125

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 27

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Arg Thr Ser Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Gln Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu Gln
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 28

<211> 125

<212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 28

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ile Ala Ser Gly Arg Thr Ser Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Gln Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu Gln
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 29

<211> 126

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 29

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Asn Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Gly Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Arg Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 30

<211> 126

ES 2 606 302 T3

<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 30
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 31
<211> 126
<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 31
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Pro Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 32
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 32
 Glu Val Pro Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Asn Tyr Lys Tyr Asp Ser Ala Ser Leu
 50 55 60
 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Gly Asp Thr
 100 105 110
 Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 33
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

10

ES 2 606 302 T3

<400> 33

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Phe Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Gly Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 34

<211> 126

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 34

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Ala Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 35

<211> 126

ES 2 606 302 T3

<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 35
Glu Val Gln Leu Met Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 36
<211> 125
<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 36
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Phe Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 37
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 37
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Phe Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 38
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama

10 <400> 38
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
 50 55 60
 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
 100 105 110
 Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 39
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 39
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
 50 55 60
 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
 100 105 110
 Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 40
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

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

ES 2 606 302 T3

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu Gln
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 41

<211> 126

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 41

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 42

<211> 126

<212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 42

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
50 55 60

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Arg Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 43

<211> 125

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 43

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Ser Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Arg Ala Tyr Ala Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 44
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 44
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Asp Leu Val Gln Pro Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Ser Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ser Val Ser Leu
 50 55 60
 Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
 100 105 110
 Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 45
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama

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

ES 2 606 302 T3

<210> 46
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 46
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Phe Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ala Ser Gly Gly Tyr Ile Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asp Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Thr Pro Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ala Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 47
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Artificial

10

<220>
 <223> Secuencia de lama glama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 47

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 48

<211> 125

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama glama mutada

<400> 48

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

10 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val

35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 49
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de lama glama mutada

<400> 49
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

10 <210> 50
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia de lama glama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 50

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 51

<211> 125

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama glama mutada

<400> 51

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 52
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de lama glama mutada

<400> 52
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

10 <210> 53
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia de lama glama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 53

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 54

<211> 125

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama glama mutada

<400> 54

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

10 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 55
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de lama glama mutada

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

10 <210> 56
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia de lama glama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 56

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 57

<211> 125

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama glama mutada

<400> 57

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

10 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 58
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 58
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Gly Ser Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ser Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ser Ala Ile Ser Glu Tyr Ser Asn Thr Tyr Cys Ser Asp Ser Val Arg
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Met Asn Ser Leu Thr Pro Asp Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ala Ser Pro Thr Ile Leu Leu Thr Thr Glu Gln Trp Tyr Lys Tyr Trp
 100 105 110
 Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 59
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama

10

ES 2 606 302 T3

<400> 59

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Thr Gly Arg Thr Phe Arg Ala Ser
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Asn Trp Ser Gly Leu Ser Thr Phe Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Asp Asn Gly Ala Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Ser Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Arg Ile Pro Ser Ser Ser Arg Phe Ser Ser Pro Ala Ala
100 105 110

Tyr Ala Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 60

<211> 125

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 60

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Thr Ser Ile Tyr Thr Ile Thr
20 25 30

Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Trp Ser Ala Pro Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Arg Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Phe Lys Gly Arg Ser Ile Val Thr Pro Ser Asp Tyr
100 105 110

Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 61

<211> 111

ES 2 606 302 T3

<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 61
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ala Val Gly Asp Ile
20 25 30

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

Ala Thr Ile Thr Pro Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Trp Asp Phe Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Thr Gln Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
100 105 110

5 <210> 62
<211> 128
<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 62
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

10 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Asp
20 25 30

Asp Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Arg Ser Arg Pro Leu Gly Ala Gly Ala Trp Tyr Ser Gly Glu
100 105 110

Lys His Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

15 <210> 63
<211> 121
<212> PRT
<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 63

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ser Phe Ser His Tyr
20 25 30

Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Thr Ala Phe Tyr Arg Gly Pro Tyr Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 64

<211> 113

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 64

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile Arg Phe Met Ser Met
20 25 30

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

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

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
65 70 75 80

Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 65

<211> 116

<212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 65

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Phe Ser Asn Asn
20 25 30

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

Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Gly Phe Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Asn Ala Ala Tyr Arg Thr Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

5

<210> 66

<211> 125

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 66

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Thr Ser Ile Tyr Ser Ile Thr
20 25 30

Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Ser Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Trp Ser Ala Pro Ser Ser Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Phe Lys Gly Arg Ser Ile Val Thr Arg Ser Asp Tyr
100 105 110

10

Lys Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 67

<211> 125

<212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 67

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Thr Ser Ile Tyr Ser Ile Ser
20 25 30

Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Ala Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Trp Ser Ala Pro Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Thr Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Phe Lys Gly Arg Ser Ile Val Thr Arg Ser Asp Tyr
100 105 110

Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

5 <210> 68
<211> 126
<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 68

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ala Lys Asn Ser Val Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

10 Ala Ala Ser Thr Trp Tyr Gly Tyr Ser Thr Tyr Ala Arg Arg Glu Glu
100 105 110

Tyr Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 69
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 69
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ser Phe Ser Asp Asn
 20 25 30
 Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala His Ile Ser Arg Gly Gly Ser Arg Thr Glu Tyr Ala Glu Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Thr Lys Lys Thr Met Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ser Arg Ser Val Ala Leu Ala Thr Ala Arg Pro Tyr Asp Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120

<210> 70
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Lama glama

10 <400> 70
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Thr Ser Gly Leu Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Tyr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45

ES 2 606 302 T3

Ala Thr Ile Ser Trp Asn Lys Ile Ser Thr Ile Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Asn Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Ala Ser Arg Pro Thr Leu Arg Ile Pro Gln Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 71

<211> 115

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 71

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Val Arg Ser Asp
20 25 30

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

Ala Phe Ile Arg Ser Leu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Ala Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Ala Arg Phe Ser Gly Glu Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 72

<211> 124

<212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 72

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ser Thr Phe Gly Leu Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Arg Glu Arg Glu Phe Leu
35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Ser Ala Gly Asp Thr Gln Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Val Asn
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Gly Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Arg Gln Trp Gly Gly Thr Tyr Tyr Tyr His Gly Ser Tyr Ala
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 73

<211> 113

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 73

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile Arg Phe Met Ser Met
20 25 30

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

Ile Ser Ser Glu Gly Thr Thr Ala Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg
50 55 60

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
65 70 75 80

Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 74

<211> 128

<212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 74

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Asp
20 25 30

Asp Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Ala Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Arg Ser Arg Pro Leu Gly Ala Gly Ala Trp Tyr Thr Gly Glu
100 105 110

Thr Arg Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 75

<211> 122

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 75

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Ser Phe Ser Arg Tyr
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Ser Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ala Ser Pro Thr Ile Leu Leu Ser Thr Asp Glu Trp Tyr Lys Tyr Trp
100 105 110

Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 76

<211> 128

ES 2 606 302 T3

<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 76
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Asp
20 25 30

Asp Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Arg Ser Arg Pro Leu Gly Ala Gly Ala Trp Tyr Thr Gly Glu
100 105 110

5 Thr Arg Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 77
<211> 127
<212> PRT
10 <213> Lama glama

<400> 77
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Ser Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Arg Ala Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Val Pro Gly Arg Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Ile Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala His Tyr Trp Asn Ser Asp Ser Tyr Thr Tyr Thr Asp Ser Arg
100 105 110

Trp Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 78
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 78
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Val Leu Val
 35 40 45
 Ala Asp Ile Ser Ser Ser Gly Ile Asn Thr Tyr Val Ala Asp Ala Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ser Ala Trp Trp Tyr Ser Gln Met Ala Arg Asp Asn Tyr Arg
 100 105 110
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120

10 <210> 79
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 79

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Thr Leu Ser Arg Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ser Ile Asn Thr Ser Gly Lys Arg Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Met
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ala Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Gly Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Leu Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Phe Phe Gly Ser Asp Ser Asn Glu Pro Arg Ala Tyr
100 105 110

Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 80

<211> 123

5 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 80

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Glu
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Thr Ile Arg His His Gly Tyr Asp Thr Tyr Tyr Ala Glu Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Ser Cys
85 90 95

Ala Lys Lys Leu Phe Trp Asp Met Asp Pro Lys Thr Gly Phe Ser Ser
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 81

10 <211> 126

ES 2 606 302 T3

<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 81
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Gly Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Gly Trp Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Val Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Lys Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Lys Val Arg Asn Phe Asn Ser Asp Trp Asp Leu Leu Thr Ser
100 105 110

Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 82
<211> 125
<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 82
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Met Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ala Leu Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Arg Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Gly Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gln Thr Thr Ser Lys Tyr Asp Asn Tyr Asp Ala Arg Ala Tyr
100 105 110

Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 83
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 83
 Glu Glu Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Met Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ala Leu Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Arg Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Arg Ile Ser Trp Ser Gly Ala Asn Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Gly Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Gln Thr Thr Ser Lys Tyr Asp Asn Tyr Asp Ala Arg Ala Tyr
 100 105 110
 Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

10 <210> 84
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 84
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Thr Ile Ser Gln Ser Gly Tyr Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asn
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Asp Pro Phe Tyr Ser Tyr Gly Ser Pro Ser Pro Tyr Arg Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120

ES 2 606 302 T3

<210> 85
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

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

<210> 86
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

10 <400> 86
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Thr Ser Ile Tyr Ser Ile Thr
 20 25 30
 Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Ala Ile Thr Trp Ser Ala Pro Ser Ser Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Val Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Asp Arg Phe Lys Gly Arg Ser Ile Val Thr Arg Ser Asp Tyr
 100 105 110
 Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 87
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 87
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ser Phe Ser Ser Leu
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Val Pro Gly Lys Asp Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Ser Ile Ser Gln Ser Gly Ile Thr Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Ser Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Leu Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Thr Ser Val Phe Tyr Ser Thr Ala Leu Thr Arg Pro Val Asp Tyr
 100 105 110
 Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 88
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> Lama glama

10

ES 2 606 302 T3

<400> 88

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Thr Ser Ile Tyr Ser Ile Thr
20 25 30

Val Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Trp Ser Ala Pro Thr Thr Tyr Ser Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Ile Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Phe Lys Gly Arg Ser Ile Val Thr Arg Ser Asp Tyr
100 105 110

Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 89

<211> 129

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 89

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ser Val Thr Gly Arg Thr Phe Asn Lys Tyr
20 25 30

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Asn Asp Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Thr Lys Asn Lys Ile Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Met Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ile Asp Glu Asp Leu Tyr His Tyr Ser Ser Tyr His Phe Thr Arg

5

ES 2 606 302 T3

100

105

110

Val Asp Leu Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 90

<211> 117

5 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 90

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ala Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Ser
20 25 30

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

Ser Arg Ile Ser Pro Gly Gly Leu Phe Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ser Val Ser Thr Asp Asn Ala Asn Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Ser Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Gly Ala Pro Asn Tyr Thr Pro Arg Gly Arg Gly Thr Gln
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 91

10 <211> 115

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 91

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Val Arg Ser Asp
20 25 30

ES 2 606 302 T3

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

Ala Phe Ile Arg Ser Leu Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Gly Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Ala Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Ala Arg Phe Ser Gly Glu Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Pro Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 92
<211> 129
<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 92
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Arg Thr Phe Asn Asn Tyr
20 25 30

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Thr Lys Asn Lys Val Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ile Asp Glu Asp Leu Tyr His Tyr Ser Ser Tyr His Tyr Thr Arg
100 105 110

Val Ala Leu Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 93
<211> 124
<212> PRT
<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 93

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Asn Thr Phe Gly Leu Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Arg Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ser Ala Ile Thr Trp Ser Ala Gly Asp Thr Gln Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Val Asn
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Gly Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Gly Arg Gln Trp Gly Gly Thr Tyr Tyr Tyr His Gly Ser Tyr Ala
100 105 110

Trp Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 94

<211> 128

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 94

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Glu Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Thr Asp
20 25 30

Asp Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Met Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Arg Ser Arg Pro Leu Gly Ala Gly Ala Trp Tyr Thr Gly Glu
100 105 110

Asn Tyr Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 95

<211> 126

ES 2 606 302 T3

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 95

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Ser Ser Gly Tyr
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Asn Leu Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ser Gly Arg Ile Trp Arg Ser Arg Asp Tyr Asp Ser Glu Lys Tyr
100 105 110

Tyr Asp Ile Trp Gly His Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

5

<210> 96

<211> 129

<212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 96

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Trp Thr Asn Ser Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Asp Arg Arg Arg Thr Tyr Ser Arg Trp Arg Phe Tyr Thr Gly
100 105 110

Val Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 97

<211> 129

5 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 97

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Trp Ser Gly Gly Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Pro Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Asp Arg Arg Arg Ala Tyr Ser Arg Trp Arg Tyr Tyr Thr Gly
100 105 110

Val Asn Asp Tyr Glu Phe Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 98

<211> 129

5 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 98

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Trp Ser Gly Gly Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Asp Arg Arg Arg Leu Tyr Ser Arg Trp Arg Tyr Tyr Thr Gly
100 105 110

Val Asn Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 99

<211> 129

10 <212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 99

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Trp Thr Gly Gly Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asn Thr Val Ser
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Asp Arg Arg Arg Thr Tyr Ser Arg Trp Arg Tyr Tyr Thr Gly
100 105 110

Val Asn Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 100

<211> 129

5 <212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 100

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Trp Thr Gly Asp Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asn Thr Val Ser
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Asp Arg Arg Arg Thr Tyr Ser Arg Trp Arg Tyr Tyr Thr Gly
100 105 110

Val Asn Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 101

<211> 123

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 101

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Val Tyr
20 25 30

Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Ser Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Pro Ile Ala Pro Ser Pro Arg Pro Arg Glu Tyr Tyr Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

ES 2 606 302 T3

<210> 102
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 102
 Glu Val Gln Leu Met Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
 20 25 30
 Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Val Ile Ser Trp Thr Gly Gly Met Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asn Thr Val Ser
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Val Asp Arg Arg Arg Thr Tyr Ser Arg Trp Arg Tyr Tyr Thr Gly
 100 105 110
 Val Asn Glu Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
 115 120 125

Ser

<210> 103
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Lama glama

10

ES 2 606 302 T3

<400> 103

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ala Tyr
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Val Ile Ser Trp Ser Gly Gly Met Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Thr Gln Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Val Gly Arg Arg Arg Ala Tyr Ser Arg Trp Arg Tyr Tyr Thr Gly
100 105 110

Val Asn Glu Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 104

<211> 125

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 104

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Arg Thr Phe Asn Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Arg Tyr Tyr Ser Ser Asp Gly Val Pro Ser Ala Ser Phe
100 105 110

Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 105

<211> 128

ES 2 606 302 T3

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 105

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Phe Thr Ser Ala Arg Thr Phe Asp Thr Trp
20 25 30

Ala Met Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Ile
35 40 45

Ser Ala Ile Ser Trp Ser Gly Ser Met Thr Tyr Tyr Thr Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Gln Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Asn Thr Ala Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Lys Thr Val Asp Tyr Cys Ser Ala Tyr Glu Cys Tyr Ala Arg
100 105 110

Leu Glu Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Ala Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

5

<210> 106

<211> 126

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 106

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Met Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Arg Phe Thr Ser Thr
20 25 30

Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Gly Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Leu Ser Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Glu Ala Val Lys
50 55 60

10

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Ala Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly
85 90 95

Ala Asp Pro Ser Tyr Tyr Ser Thr Ser Arg Tyr Thr Lys Ala Thr Glu
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

ES 2 606 302 T3

<210> 107
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 107
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Asn Thr Tyr
 20 25 30
 Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Thr Pro Gly Thr Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Ala Ile Arg Trp Thr Val Asn Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile Val Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Gln Thr Ser Ala Pro Arg Ser Leu Ile Arg Met Ser Asn Glu
 100 105 110
 Tyr Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 108
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> Lama glama

10 <400> 108
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15

ES 2 606 302 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ser Leu Tyr
20 25 30

Thr Val Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Thr Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Thr Ser Arg Gly Leu Ser Ser Leu Ala Gly Glu Tyr Asn Tyr
100 105 110

Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 109

<211> 123

5 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 109

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ser Ala Phe Lys Ser Tyr
20 25 30

Arg Met Gly Trp Phe Arg Arg Thr Pro Gly Lys Glu Asp Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Trp Thr Tyr Gly Ser Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asn Ala Gly Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Gly Ala Gln Ser Asp Arg Tyr Asn Ile Arg Ser Tyr Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

10

<210> 110

<211> 115

<212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 110

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Ser
20 25 30

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

Ser Ser Ile Pro Pro Val Gly His Phe Ala Asn Tyr Ala Pro Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Ala Gly Arg Thr Lys Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 111

<211> 124

5 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 111

Lys Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Arg Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Asp Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Thr Arg Ser Ser Thr Ile Val Val Gly Val Gly Gly Met Glu
100 105 110

Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

10

ES 2 606 302 T3

<210> 112
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 112
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Gly Asp Tyr
 20 25 30
 Asp Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu Gly Val
 35 40 45
 Ser Cys Ile Thr Thr Asp Val Gly Thr Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Ile Asn Asp Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Val Asp Thr Gln Asp Leu Gly Leu Asp Ile Phe Cys Arg Gly Asn
 100 105 110
 Gly Pro Phe Asp Gly Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
 115 120 125

<210> 113
 <211> 134
 <212> PRT
 <213> Lama glama

10

ES 2 606 302 T3

<400> 113

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Leu Asn Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Cys Ile Ser Ser Tyr Asp Ser Val Thr Tyr Tyr Ala Asp His Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ala Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Ser Ile Glu Asp Thr Gly Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Glu Arg Glu Gln Leu Arg Arg Arg Glu Ser Pro His Asp Glu
100 105 110

Leu Leu Arg Leu Cys Phe Tyr Gly Met Arg Tyr Ser Gly Lys Gly Thr
115 120 125

Leu Val Thr Val Ser Ser
130

<210> 114

<211> 123

5 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 114

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Arg Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ala Val
35 40 45

Ser Cys Ile Ser Ser Ser Asp Thr Ser Ile Asp Tyr Thr Asn Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Phe Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Phe Arg Cys Ser Gly Tyr Glu Leu Arg Gly Phe Pro Thr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

10

ES 2 606 302 T3

<210> 115
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama

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

<210> 116
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> Lama glama

10 <400> 116
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Ala
 1 5 10 15

ES 2 606 302 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Gly Phe Thr Leu Tyr
20 25 30

Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Ser Ser Pro Met Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ser Ile Ser Ile Asn Asn Asp Lys Thr Thr Gly Phe
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Val Leu Lys Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Ala Pro Glu Gly Ser Phe Arg Arg Gln Tyr Ala Asp Arg Ala Met
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 117

<211> 127

5 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 117

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Gly Ser
20 25 30

Asp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ser Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ile Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Arg Ser Thr Tyr Ser Tyr Tyr Leu Ala Leu Ala Asp Arg Gly
100 105 110

Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

10

<210> 118

<211> 125

<212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 118

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Phe Thr Leu Gly Thr Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ala Val
35 40 45

Ser Cys Met Ser Ala Gly Asp Ser Ile Pro Trp Tyr Thr Ala Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Thr Ser Thr Asp Asn Ala Arg Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala His Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ala Arg Tyr His Gly Asp Tyr Cys Tyr Tyr Glu Gly Tyr Tyr
100 105 110

Pro Phe Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 119

<211> 117

5 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 119

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Thr Ser Ile Ser Ser Thr Asn
20 25 30

Phe Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Ser Ser Ser Ile Thr Asn Tyr Val Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Thr Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys His
85 90 95

Ala Arg Trp Arg Trp Ser Asp Val Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

10

<210> 120

<211> 121

ES 2 606 302 T3

<212> PRT
<213> Lama glama

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

5 <210> 121
<211> 127
<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 121
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Leu Thr Phe Ser Asp Tyr
20 25 30
Asn Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gln Phe Val
35 40 45
Ala Val Ile Ser Trp Arg Asp Ser Phe Ala Tyr Tyr Ala Glu Pro Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Ala Asp Arg Val Ser Ser Arg Leu Val Leu Pro Asn Thr Ser Pro
100 105 110
Asp Phe Gly Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

10

ES 2 606 302 T3

<210> 122
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 122
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Asn Asn Ala
 20 25 30
 Ile Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Gln Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Ala Met Asn Trp Arg Gly Gly Pro Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gly Asp Asn Thr Lys Asn Thr Val Phe
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Phe Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Asp Glu Asp Leu Tyr His Tyr Ser Ser Tyr His Tyr Ser Arg
 100 105 110
 Val Asp Leu Tyr His Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
 115 120 125

Ser

10 <210> 123
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 123

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Thr Thr Ser Ser Ile Phe
20 25 30

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

Ala Ser Ile Thr Arg Ser Ser Ile Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Ser Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Ala Ala Ile Arg Pro Glu Leu Tyr Ser Val Val Asn Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 124

<211> 123

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 124

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ser Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Pro Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala His Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Val Asn Leu Gly Ser Thr Trp Ser Arg Asp Gln Arg Thr Tyr Asp Tyr
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 125

<211> 113

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de lama glama mutada

5 <400> 125
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Arg Phe Met Ser Met
20 25 30

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

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

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
65 70 75 80

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

10 <210> 126
<211> 113
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de lama glama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 126

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile Arg Phe Ile Ser Met
20 25 30

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

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

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
65 70 75 80

Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 127

<211> 113

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama glama mutada

<400> 127

10 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Arg Phe Ile Ser Met
20 25 30

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

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

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
65 70 75 80

Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser

<210> 128

<211> 285

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Artificial polypeptide comprising lama glama sequences

5 <400> 128
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95

ES 2 606 302 T3

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
165 170 175

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
180 185 190

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
195 200 205

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
210 215 220

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
225 230 235 240

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
245 250 255

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
260 265 270

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280 285

<210> 129

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 129

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

ES 2 606 302 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 130 135 140
 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 145 150 155 160
 Ser Ala Val Gly Asp Ile Thr Val Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly
 165 170 175
 Ile Gln Arg Gln Leu Val Ala Thr Ile Thr Pro Ser Gly Tyr Thr Tyr
 180 185 190
 Tyr Trp Asp Phe Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser
 195 200 205
 Lys Asn Ile Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 210 215 220
 Ala Ala Tyr Tyr Cys Asn Thr Gln Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
 225 230 235 240
 Val Thr Val Ser Ser
 245

<210> 130

<211> 255

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

ES 2 606 302 T3

<400> 130

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Ala Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Arg Ser Phe Ser His Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Ile Arg Gly Gly Gly Ser Thr
180 185 190

Thr Tyr Ala Asn Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn
195 200 205

Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Thr Ala Phe Tyr Arg Gly Pro Tyr
225 230 235 240

Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245 250 255

- 5 <210> 131
- <211> 247
- <212> PRT
- <213> Artificial

<220>

- 10 <223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

ES 2 606 302 T3

<400> 131

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1          5          10          15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
          20          25          30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
          35          40          45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50          55          60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65          70          75          80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
          85          90          95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
          100          105          110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
          115          120          125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130          135          140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly
145          150          155          160

Ile Arg Phe Met Ser Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys His
          165          170          175

Arg Glu Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Ala Tyr Val
          180          185          190

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn
          195          200          205

Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val
210          215          220

Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly
225          230          235          240

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
          245

```

5 <210> 132
 <211> 250
 <212> PRT
 <213> Artificial

ES 2 606 302 T3

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 132

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Asn Ile Phe Ser Asn Asn Ala Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Gly Phe Thr
180 185 190

Tyr Tyr Leu Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn
195 200 205

Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Ala Tyr Arg Thr Tyr Asn Tyr Trp
225 230 235 240

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 133

<211> 258

<212> PRT

<213> Artificial

ES 2 606 302 T3

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 133

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Arg Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Glu Arg Val Leu Val Ala Asp Ile Ser Ser Ser Gly Ile Asn Thr
180 185 190

Tyr Val Ala Asp Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
195 200 205

Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ala Trp Trp Tyr Ser Gln Met
225 230 235 240

Ala Arg Asp Asn Tyr Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
245 250 255

Ser Ser

<210> 134

<211> 251

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

5 <400> 134
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ala Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Leu Ser Ser Ser Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Ser Pro Gly Gly Leu Phe Thr
180 185 190

Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Ser Val Ser Thr Asp Asn
195 200 205

Ala Asn Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Leu Tyr Ser Cys Ala Lys Gly Gly Ala Pro Asn Tyr Thr Pro
225 230 235 240

Arg Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 135
<211> 259

10

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

5 <400> 135
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly
145 150 155 160

Arg Thr Phe Asn Ser Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Glu Arg Glu Ser Val Ala His Ile Asn Arg Ser Gly Ser Ser Thr
180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
195 200 205

Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Arg Tyr Tyr Ser Ser Asp Gly
225 230 235 240

Val Pro Ser Ala Ser Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
245 250 255

Val Ser Ser

<210> 136
 <211> 257
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 136
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 130 135 140
 Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly
 145 150 155 160
 Ser Ala Phe Lys Ser Tyr Arg Met Gly Trp Phe Arg Arg Thr Pro Gly
 165 170 175
 Lys Glu Asp Glu Phe Val Ala Ser Ile Ser Trp Thr Tyr Gly Ser Thr

ES 2 606 302 T3

180

185

190

Phe Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Lys
195 200 205

Ala Lys Asn Ala Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Gln Ser Asp Arg Tyr Asn
225 230 235 240

Ile Arg Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser

<210> 137

<211> 249

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 137

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

ES 2 606 302 T3

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Thr Ser Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Pro Pro Val Gly His Phe Ala
180 185 190

Asn Tyr Ala Pro Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
195 200 205

Ala Lys Asn Thr Leu Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Ser Ala Gly Arg Thr Lys Gly
225 230 235 240

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 138

<211> 258

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 138

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

ES 2 606 302 T3

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu
145 150 155 160

Arg Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Asp Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Thr Arg Ser Gly Gly Gly Thr
180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
195 200 205

Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Thr Arg Ser Ser Thr Ile Val Val
225 230 235 240

Gly Val Gly Gly Met Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Gln Val Thr Val
245 250 255

Ser Ser

<210> 139

<211> 276

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 139

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

ES 2 606 302 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 145 150 155 160
 Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 165 170 175
 Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser
 180 185 190
 Ala Val Gly Asp Ile Thr Val Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Ile
 195 200 205
 Gln Arg Gln Leu Val Ala Thr Ile Thr Pro Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr
 210 215 220
 Trp Asp Phe Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys
 225 230 235 240
 Asn Ile Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
 245 250 255
 Ala Tyr Tyr Cys Asn Thr Gln Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
 260 265 270
 Thr Val Ser Ser
 275

<210> 140

<211> 286

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

ES 2 606 302 T3

<400> 140

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1          5          10          15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
          20          25          30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
          35          40          45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50          55          60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65          70          75          80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
          85          90          95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
          100          105          110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
          115          120          125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
          130          135          140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145          150          155          160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
          165          170          175

Ala Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
          180          185          190

Ser Phe Ser His Tyr Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
          195          200          205

Glu Arg Glu Phe Val Ala Ser Ile Arg Gly Gly Gly Gly Ser Thr Thr
          210          215          220

Tyr Ala Asn Ser Val Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala
225          230          235          240

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
          245          250          255

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Thr Ala Phe Tyr Arg Gly Pro Tyr Asp
          260          265          270

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
          275          280          285

```

<210> 141
 <211> 278
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 141
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

ES 2 606 302 T3

115		120		125
Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly	130	135	140	
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser	145	150	155	160
Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu	165	170	175	
Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile	180	185	190	
Arg Phe Met Ser Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys His Arg	195	200	205	
Glu Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Ala Tyr Val Asp	210	215	220	
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr	225	230	235	240
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr	245	250	255	
Tyr Cys Asn Thr Phe Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly Thr	260	265	270	
Gln Val Thr Val Ser Ser	275			

<210> 142

<211> 281

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 142

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp	1	5	10	15
---	---	---	----	----

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr	20	25	30
---	----	----	----

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val	35	40	45
---	----	----	----

ES 2 606 302 T3

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn
180 185 190

Ile Phe Ser Asn Asn Ala Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys
195 200 205

Gln Arg Glu Leu Val Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Gly Phe Thr Tyr
210 215 220

Tyr Leu Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala
225 230 235 240

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
245 250 255

Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Ala Ala Tyr Arg Thr Tyr Asn Tyr Trp Gly
260 265 270

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280

<210> 143

<211> 289

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

ES 2 606 302 T3

<400> 143

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg
180 185 190

Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
195 200 205

Glu Arg Val Leu Val Ala Asp Ile Ser Ser Ser Gly Ile Asn Thr Tyr
210 215 220

Val Ala Asp Ala Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
225 230 235 240

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
245 250 255

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ala Trp Trp Tyr Ser Gln Met Ala
260 265 270

Arg Asp Asn Tyr Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
275 280 285

Ser

<210> 144

<211> 282

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 144

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

10 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ala Cys Ala Ala Ser Gly Phe
180 185 190

Thr Leu Ser Ser Ser Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
195 200 205

Gly Leu Glu Trp Val Ser Arg Ile Ser Pro Gly Gly Leu Phe Thr Tyr
210 215 220

Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Ser Val Ser Thr Asp Asn Ala
225 230 235 240

Asn Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
245 250 255

Ala Leu Tyr Ser Cys Ala Lys Gly Gly Ala Pro Asn Tyr Thr Pro Arg
260 265 270

Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280

<210> 145

<211> 290

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 145

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

10 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

ES 2 606 302 T3

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

Val Gln Ala Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Arg
180 185 190

Thr Phe Asn Ser Tyr Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
195 200 205

Glu Arg Glu Ser Val Ala His Ile Asn Arg Ser Gly Ser Ser Thr Tyr
210 215 220

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
225 230 235 240

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Leu Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
245 250 255

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Arg Tyr Tyr Ser Ser Asp Gly Val
260 265 270

Pro Ser Ala Ser Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
275 280 285

Ser Ser
290

<210> 146

<211> 288

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

ES 2 606 302 T3

<400> 146

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1          5          10          15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
          20          25          30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
          35          40          45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50          55          60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65          70          75          80

Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
          85          90          95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
          100          105          110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
          115          120          125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130          135          140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145          150          155          160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
          165          170          175

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ser
          180          185          190

Ala Phe Lys Ser Tyr Arg Met Gly Trp Phe Arg Arg Thr Pro Gly Lys
          195          200          205

Glu Asp Glu Phe Val Ala Ser Ile Ser Trp Thr Tyr Gly Ser Thr Phe
210          215          220

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Lys Ala
225          230          235          240

Lys Asn Ala Gly Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
          245          250          255

Ala Leu Tyr Tyr Cys Ala Ala Gly Ala Gln Ser Asp Arg Tyr Asn Ile
260          265          270

Arg Ser Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275          280          285

```

<210> 147
 <211> 280
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 147
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly

ES 2 606 302 T3

130

135

140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
165 170 175

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe
180 185 190

Thr Phe Ser Thr Ser Trp Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
195 200 205

Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Pro Pro Val Gly His Phe Ala Asn
210 215 220

Tyr Ala Pro Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
225 230 235 240

Lys Asn Thr Leu Phe Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr
245 250 255

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Lys Asp Ser Ala Gly Arg Thr Lys Gly Gln
260 265 270

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280

<210> 148

<211> 289

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 148

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu
50 55 60

10

ES 2 606 302 T3

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 145 150 155 160
 Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 165 170 175
 Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Arg
 180 185 190
 Thr Phe Ser Asn Tyr Ala Met Asp Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 195 200 205
 Glu Arg Glu Phe Val Ala Ala Ile Thr Arg Ser Gly Gly Gly Thr Tyr
 210 215 220
 Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 225 230 235 240
 Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
 245 250 255
 Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Thr Arg Ser Ser Thr Ile Val Val Gly
 260 265 270
 Val Gly Gly Met Glu Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
 275 280 285

Ser

<210> 149

<211> 245

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

ES 2 606 302 T3

<400> 149

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ala Val Gly Asp Ile
20 25 30

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

Ala Thr Ile Thr Pro Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Trp Asp Phe Val Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Asn
85 90 95

Thr Gln Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
100 105 110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val
130 135 140

Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
145 150 155 160

Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr
165 170 175

Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp
180 185 190

Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu
195 200 205

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser
210 215 220

Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
225 230 235 240

Val Thr Val Ser Ser
245

- 5 <210> 150
- <211> 255
- <212> PRT
- <213> Artificial

<220>

- 10 <223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

ES 2 606 302 T3

<400> 150

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Ala Gly Asp
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ser Phe Ser His Tyr
20 25 30

Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Thr Ala Phe Tyr Arg Gly Pro Tyr Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr
130 135 140

Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser
145 150 155 160

Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu
165 170 175

Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser
180 185 190

Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
195 200 205

Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr
210 215 220

Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp
225 230 235 240

Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245 250 255

5 <210> 151
<211> 247
<212> PRT
<213> Artificial

<220>

10 <223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

ES 2 606 302 T3

<400> 151

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile Arg Phe Met Ser Met
20 25 30

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

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

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
65 70 75 80

Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys
130 135 140

Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg
145 150 155 160

Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly
165 170 175

Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser
180 185 190

Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys
195 200 205

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly
210 215 220

Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly
225 230 235 240

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245

- 5 <210> 152
- <211> 250
- <212> PRT
- <213> Artificial

<220>

- 10 <223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

ES 2 606 302 T3

<400> 152

Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	1	5	10	15
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Asn	Ile	Phe	Ser	Asn	Asn	20	25	30	
Ala	Met	Ala	Trp	Tyr	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gln	Arg	Glu	Leu	Val	35	40	45	
Ala	Arg	Ile	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Phe	Thr	Tyr	Tyr	Leu	Asp	Ser	Val	50	55	60	
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Val	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	65	70	75	80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Asn	Ala	Ala	Tyr	Arg	Thr	Tyr	Asn	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	100	105	110	
Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	115	120	125	
Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Thr	Gly	Asp	Ser	Leu	Arg	130	135	140	
Leu	Ser	Cys	Glu	Val	Ser	Gly	Arg	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr	Ser	Met	Gly	145	150	155	160
Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Gln	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Phe	Val	Val	Ala	Ile	165	170	175	
Ser	Lys	Gly	Gly	Tyr	Lys	Tyr	Asp	Ser	Val	Ser	Leu	Glu	Gly	Arg	Phe	180	185	190	
Thr	Ile	Ser	Lys	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Ile	Asn	195	200	205	
Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ser	Ser	Arg	210	215	220	
Ala	Tyr	Gly	Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Leu	Ala	Asp	Thr	Tyr	Glu	Tyr	Trp	225	230	235	240
Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser							245	250		

5 <210> 153
 <211> 258
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 153

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Val Leu Val
35 40 45

5

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Ala Trp Trp Tyr Ser Gln Met Ala Arg Asp Asn Tyr Arg
100 105 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
130 135 140

Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg
145 150 155 160

Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys
165 170 175

Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp
180 185 190

Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys
195 200 205

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg
225 230 235 240

Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
245 250 255

Ser Ser

<210> 154

<211> 251

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

5 <400> 154
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ala Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Ser
20 25 30
Trp Met Tyr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45
Ser Arg Ile Ser Pro Gly Gly Leu Phe Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Ser Val Ser Thr Asp Asn Ala Asn Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Ser Cys
85 90 95
Ala Lys Gly Gly Ala Pro Asn Tyr Thr Pro Arg Gly Arg Gly Thr Gln
100 105 110
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val
115 120 125
Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu
130 135 140
Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met
145 150 155 160
Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala
165 170 175
Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg
180 185 190
Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile
195 200 205
Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser
210 215 220
Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr
225 230 235 240
Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
245 250

<210> 155
<211> 259

10

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

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

<210> 156
 <211> 257
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 156
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ser Ala Phe Lys Ser Tyr
 20 25 30
 Arg Met Gly Trp Phe Arg Arg Thr Pro Gly Lys Glu Asp Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Ser Ile Ser Trp Thr Tyr Gly Ser Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asn Ala Gly Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Gly Ala Gln Ser Asp Arg Tyr Asn Ile Arg Ser Tyr Asp Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125

ES 2 606 302 T3

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
130 135 140

Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr
145 150 155 160

Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu
165 170 175

Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser
180 185 190

Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn
195 200 205

Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
210 215 220

Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu
225 230 235 240

Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser

<210> 157

<211> 249

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 157

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Ser
20 25 30

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

Ser Ser Ile Pro Pro Val Gly His Phe Ala Asn Tyr Ala Pro Ser Val
50 55 60

10 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe

ES 2 606 302 T3

65					70					75					80	
Leu	Gln	Met	Asn	Ser 85	Leu	Lys	Ser	Glu	Asp 90	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr 95	Cys	
Ala	Lys	Asp	Ser 100	Ala	Gly	Arg	Thr	Lys 105	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln 110	Val	Thr	
Val	Ser	Ser 115	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser 120	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu 125	Val	Gln	Leu	
Val	Glu 130	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu 135	Val	Gln	Thr	Gly	Asp 140	Ser	Leu	Arg	Leu	
Ser 145	Cys	Glu	Val	Ser	Gly 150	Arg	Thr	Phe	Ser	Ser 155	Tyr	Ser	Met	Gly	Trp 160	
Phe	Arg	Gln	Ala	Gln 165	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu 170	Phe	Val	Val	Ala	Ile 175	Ser	
Lys	Gly	Gly	Tyr 180	Lys	Tyr	Asp	Ser	Val 185	Ser	Leu	Glu	Gly	Arg 190	Phe	Thr	
Ile	Ser	Lys 195	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn 200	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln 205	Ile	Asn	Ser	
Leu	Lys 210	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala 215	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala 220	Ser	Ser	Arg	Ala	
Tyr 225	Gly	Ser	Ser	Arg	Leu 230	Arg	Leu	Ala	Asp	Thr 235	Tyr	Glu	Tyr	Trp	Gly 240	
Gln	Gly	Thr	Gln	Val 245	Thr	Val	Ser	Ser								

<210> 158
<211> 258
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 158
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Glu Arg Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

ES 2 606 302 T3

Ala Met Asp Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Thr Arg Ser Ser Thr Ile Val Val Gly Val Gly Gly Met Glu
100 105 110

Tyr Trp Gly Lys Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
130 135 140

Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg
145 150 155 160

Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys
165 170 175

Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp
180 185 190

Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys
195 200 205

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
210 215 220

Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg
225 230 235 240

Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
245 250 255

Ser Ser

<210> 159

<211> 276

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

ES 2 606 302 T3

<400> 159

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10          15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ala Val Gly Asp Ile
          20          25          30

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

Ala Thr Ile Thr Pro Ser Gly Tyr Thr Tyr Tyr Trp Asp Phe Val Lys
50          55          60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Ile Val Tyr Leu
65          70          75          80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ala Tyr Tyr Cys Asn
          85          90          95

Thr Gln Phe Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
          100          105          110

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
          115          120          125

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
          130          135          140

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
          145          150          155          160

Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser
          165          170          175

Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln
          180          185          190

Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys
          195          200          205

Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn
          210          215          220

Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
          225          230          235          240

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg
          245          250          255

Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val
          260          265          270

Thr Val Ser Ser
          275

```

<210> 160
 <211> 286
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 160
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Ala Gln Ala Gly Asp
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ser Phe Ser His Tyr
 20 25 30
 Asn Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Ser Ile Arg Gly Gly Gly Gly Ser Thr Thr Tyr Ala Asn Ser Val
 50 55 60
 Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Thr Ala Phe Tyr Arg Gly Pro Tyr Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly
 100 105 110
 Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 115 120 125
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
 130 135 140

ES 2 606 302 T3

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
145 150 155 160

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly
165 170 175

Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser
180 185 190

Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe
195 200 205

Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu
210 215 220

Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
225 230 235 240

Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
245 250 255

Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr
260 265 270

Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280 285

<210> 161

<211> 278

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 161

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile Arg Phe Met Ser Met
20 25 30

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

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

ES 2 606 302 T3

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met
65 70 75 80

Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Thr Phe
85 90 95

Ser Ser Arg Pro Asn Pro Trp Gly Ala Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
100 105 110

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
115 120 125

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
130 135 140

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
145 150 155 160

Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu
165 170 175

Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln
180 185 190

Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly
195 200 205

Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys
210 215 220

Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro
225 230 235 240

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser
245 250 255

Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
260 265 270

Gln Val Thr Val Ser Ser
275

<210> 162

<211> 281

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

ES 2 606 302 T3

<400> 162

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

<210> 163
 <211> 289
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 163
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Val Leu Val
 35 40 45
 Ala Asp Ile Ser Ser Ser Gly Ile Asn Thr Tyr Val Ala Asp Ala Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Ser Ala Trp Trp Tyr Ser Gln Met Ala Arg Asp Asn Tyr Arg
 100 105 110
 Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
 115 120 125
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 130 135 140
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 145 150 155 160
 Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val

ES 2 606 302 T3

165

170

175

Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr
180 185 190

Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu
195 200 205

Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser
210 215 220

Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn
225 230 235 240

Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val
245 250 255

Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu
260 265 270

Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
275 280 285

Ser

<210> 164

<211> 282

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 164

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ala Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Ser Ser Ser
20 25 30

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

Ser Arg Ile Ser Pro Gly Gly Leu Phe Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Ser Val Ser Thr Asp Asn Ala Asn Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

5

10

ES 2 606 302 T3

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Ser Cys
85 90 95

Ala Lys Gly Gly Ala Pro Asn Tyr Thr Pro Arg Gly Arg Gly Thr Gln
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln
145 150 155 160

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg
165 170 175

Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly
180 185 190

Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile
195 200 205

Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe
210 215 220

Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn
225 230 235 240

Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg
245 250 255

Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp
260 265 270

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280

<210> 165

<211> 290

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

ES 2 606 302 T3

<400> 165

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp
1          5          10          15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Arg Thr Phe Asn Ser Tyr
          20          25          30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Ser Val
          35          40          45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65          70          75          80

Leu Gln Leu Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85          90          95

Ala Ala Gly Arg Tyr Tyr Ser Ser Asp Gly Val Pro Ser Ala Ser Phe
          100          105          110

Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
          115          120          125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
          130          135          140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
145          150          155          160

Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
          165          170          175

Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg
          180          185          190

Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys
          195          200          205

Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp
          210          215          220

Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys
225          230          235          240

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
          245          250          255

Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg
          260          265          270

Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
          275          280          285

Ser Ser
          290

```

<210> 166
 <211> 288
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 166
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ser Ala Phe Lys Ser Tyr
 20 25 30
 Arg Met Gly Trp Phe Arg Arg Thr Pro Gly Lys Glu Asp Glu Phe Val
 35 40 45
 Ala Ser Ile Ser Trp Thr Tyr Gly Ser Thr Phe Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Met Ser Arg Asp Lys Ala Lys Asn Ala Gly Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Leu Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Gly Ala Gln Ser Asp Arg Tyr Asn Ile Arg Ser Tyr Asp Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 115 120 125
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 130 135 140
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 145 150 155 160

ES 2 606 302 T3

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
165 170 175

Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe
180 185 190

Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg
195 200 205

Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val
210 215 220

Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr
225 230 235 240

Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
245 250 255

Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala
260 265 270

Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280 285

<210> 167

<211> 280

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 167

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Lys Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Thr Ser
20 25 30

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

Ser Ser Ile Pro Pro Val Gly His Phe Ala Asn Tyr Ala Pro Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Phe
65 70 75 80

ES 2 606 302 T3

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Asp Ser Ala Gly Arg Thr Lys Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
145 150 155 160

Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Asp Ser Leu Arg Leu Ser
165 170 175

Cys Glu Val Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe
180 185 190

Arg Gln Ala Gln Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys
195 200 205

Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ser Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220

Ser Lys Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu
225 230 235 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr
245 250 255

Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln
260 265 270

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
275 280

<210> 168

<211> 289

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Polipéptido artificial que comprende secuencias de lama glama mutadas

<400> 168

10 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly

ES 2 606 302 T3

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

Ser

<210> 169
 <211> 35
 <212> PRT
 <213> Artificial
 5 <220>
 <223> Conector sintético
 <400> 169
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 20 25 30
 Gly Gly Ser
 35
 10 <210> 170
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> Conector sintético
 15 <400> 170
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 1 5
 <210> 171
 <211> 40
 <212> PRT
 20 <213> Artificial
 <220>
 <223> Conector sintético
 <400> 171
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 1 5 10 15
 Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 25 20 25 30
 Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 35 40
 <210> 172
 <211> 9
 <212> PRT
 30 <213> Artificial
 <220>
 <223> Conector sintético
 <400> 172
 Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Ser
 1 5
 35 <210> 173
 <211> 25
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

<223> Conector sintético

<400> 173

Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
20 25

5 <210> 174

<211> 27

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

10 <223> Conector sintético

<400> 174

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly
1 5 10 15

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
20 25

<210> 175

<211> 35

15 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Conector sintético

<400> 175

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Cys Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser
35

20

<210> 176

<211> 35

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Conector sintético

<400> 176

Gly Gly Gly Gly Cys Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
20 25 30

Gly Gly Ser
35

<210> 177

30 <211> 115

<212> PRT

<213> Artificial

ES 2 606 302 T3

<220>

<223> Secuencia de lama glama mutada

<400> 177

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

5

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 178

<211> 585

<212> PRT

10 <213> Homo sapiens

ES 2 606 302 T3

<400> 178

Asp Ala His Lys Ser Glu Val Ala His Arg Phe Lys Asp Leu Gly Glu
1 5 10 15

Glu Asn Phe Lys Ala Leu Val Leu Ile Ala Phe Ala Gln Tyr Leu Gln
20 25 30

Gln Cys Pro Phe Glu Asp His Val Lys Leu Val Asn Glu Val Thr Glu
35 40 45

Phe Ala Lys Thr Cys Val Ala Asp Glu Ser Ala Glu Asn Cys Asp Lys
50 55 60

Ser Leu His Thr Leu Phe Gly Asp Lys Leu Cys Thr Val Ala Thr Leu
65 70 75 80

Arg Glu Thr Tyr Gly Glu Met Ala Asp Cys Cys Ala Lys Gln Glu Pro
85 90 95

Glu Arg Asn Glu Cys Phe Leu Gln His Lys Asp Asp Asn Pro Asn Leu
100 105 110

Pro Arg Leu Val Arg Pro Glu Val Asp Val Met Cys Thr Ala Phe His
115 120 125

Asp Asn Glu Glu Thr Phe Leu Lys Lys Tyr Leu Tyr Glu Ile Ala Arg
130 135 140

Arg His Pro Tyr Phe Tyr Ala Pro Glu Leu Leu Phe Phe Ala Lys Arg
145 150 155 160

ES 2 606 302 T3

Tyr Lys Ala Ala Phe Thr Glu Cys Cys Gln Ala Ala Asp Lys Ala Ala
 165 170 175
 Cys Leu Leu Pro Lys Leu Asp Glu Leu Arg Asp Glu Gly Lys Ala Ser
 180 185 190
 Ser Ala Lys Gln Arg Leu Lys Cys Ala Ser Leu Gln Lys Phe Gly Glu
 195 200 205
 Arg Ala Phe Lys Ala Trp Ala Val Ala Arg Leu Ser Gln Arg Phe Pro
 210 215 220
 Lys Ala Glu Phe Ala Glu Val Ser Lys Leu Val Thr Asp Leu Thr Lys
 225 230 235 240
 Val His Thr Glu Cys Cys His Gly Asp Leu Leu Glu Cys Ala Asp Asp
 245 250 255
 Arg Ala Asp Leu Ala Lys Tyr Ile Cys Glu Asn Gln Asp Ser Ile Ser
 260 265 270
 Ser Lys Leu Lys Glu Cys Cys Glu Lys Pro Leu Leu Glu Lys Ser His
 275 280 285
 Cys Ile Ala Glu Val Glu Asn Asp Glu Met Pro Ala Asp Leu Pro Ser
 290 295 300
 Leu Ala Ala Asp Phe Val Glu Ser Lys Asp Val Cys Lys Asn Tyr Ala
 305 310 315 320
 Glu Ala Lys Asp Val Phe Leu Gly Met Phe Leu Tyr Glu Tyr Ala Arg
 325 330 335
 Arg His Pro Asp Tyr Ser Val Val Leu Leu Leu Arg Leu Ala Lys Thr
 340 345 350
 Tyr Glu Thr Thr Leu Glu Lys Cys Cys Ala Ala Ala Asp Pro His Glu
 355 360 365
 Cys Tyr Ala Lys Val Phe Asp Glu Phe Lys Pro Leu Val Glu Glu Pro
 370 375 380
 Gln Asn Leu Ile Lys Gln Asn Cys Glu Leu Phe Glu Gln Leu Gly Glu
 385 390 395 400
 Tyr Lys Phe Gln Asn Ala Leu Leu Val Arg Tyr Thr Lys Lys Val Pro
 405 410 415

ES 2 606 302 T3

Gln Val Ser Thr Pro Thr Leu Val Glu Val Ser Arg Asn Leu Gly Lys
420 425 430

Val Gly Ser Lys Cys Cys Lys His Pro Glu Ala Lys Arg Met Pro Cys
435 440 445

Ala Glu Asp Tyr Leu Ser Val Val Leu Asn Gln Leu Cys Val Leu His
450 455 460

Glu Lys Thr Pro Val Ser Asp Arg Val Thr Lys Cys Cys Thr Glu Ser
465 470 475 480

Leu Val Asn Arg Arg Pro Cys Phe Ser Ala Leu Glu Val Asp Glu Thr
485 490 495

Tyr Val Pro Lys Glu Phe Asn Ala Glu Thr Phe Thr Phe His Ala Asp
500 505 510

Ile Cys Thr Leu Ser Glu Lys Glu Arg Gln Ile Lys Lys Gln Thr Ala
515 520 525

Leu Val Glu Leu Val Lys His Lys Pro Lys Ala Thr Lys Glu Gln Leu
530 535 540

Lys Ala Val Met Asp Asp Phe Ala Ala Phe Val Glu Lys Cys Cys Lys
545 550 555 560

Ala Asp Asp Lys Glu Thr Cys Phe Ala Glu Glu Gly Lys Lys Leu Val
565 570 575

Ala Ala Ser Gln Ala Ala Leu Gly Leu
580 585

<210> 179

<211> 109

<212> PRT

5 <213> Homo sapiens

<400> 179

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ala Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

ES 2 606 302 T3

Ser Ala Ile Ser Gly Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Lys Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
100 105

<210> 180

<211> 257

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de Lama Mutada

<400> 180

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
130 135 140

10

ES 2 606 302 T3

Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe
145 150 155 160

Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys
165 170 175

Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr
180 185 190

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala
195 200 205

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
210 215 220

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu
225 230 235 240

Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
245 250 255

Ser

<210> 181

<211> 288

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 181

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

ES 2 606 302 T3

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
130 135 140

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly
145 150 155 160

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
165 170 175

Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr
180 185 190

Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu
195 200 205

Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr
210 215 220

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys
225 230 235 240

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala
245 250 255

Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro
260 265 270

Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
275 280 285

<210> 182

<211> 255

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 182

10 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Val Gly Asp

ES 2 606 302 T3

1	5					10					15				
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Arg	Thr	Phe	Ser	Thr	Tyr
			20					25					30		
Leu	Met	Val	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Phe
		35					40					45			
Ala	Ala	Gly	Ile	Trp	Ser	Ser	Gly	Asp	Thr	Ala	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
	50					55					60				
Arg	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr
65					70					75					80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
				85					90					95	
Ala	Gly	Ser	Tyr	Asp	Gly	Asn	Tyr	Tyr	Ile	Pro	Gly	Phe	Tyr	Lys	Asp
			100					105					110		
Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser
		115					120					125			
Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val
	130					135					140				
Gln	Val	Gly	Asp	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Arg	Thr
145					150					155					160
Phe	Ser	Thr	Tyr	Leu	Met	Val	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys
				165					170					175	
Glu	Arg	Glu	Phe	Ala	Ala	Gly	Ile	Trp	Ser	Ser	Gly	Asp	Thr	Ala	Tyr
			180					185					190		
Ala	Asp	Ser	Val	Arg	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys
		195					200					205			
Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Thr	Glu	Asp	Thr	Ala
	210					215					220				
Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Gly	Ser	Tyr	Asp	Gly	Asn	Tyr	Tyr	Ile	Pro	Gly
225					230					235					240
Phe	Tyr	Lys	Asp	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	
				245					250					255	

<210> 183
<211> 267
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de lama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 183

```

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1           5           10           15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
          20           25           30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
          35           40           45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr
65           70           75           80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
          85           90           95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
          100          105          110

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
          115          120          125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
130           135           140

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
145           150          155          160

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg
          165          170          175

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn
          180          185          190

Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
195           200          205

Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
          210          215          220

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly
225           230          235          240

Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala
          245          250          255

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
          260          265

```

5 <210> 184
<211> 298

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de lama mutada

5 <400> 184
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
 100 105 110
 Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
 130 135 140
 Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
 145 150 155 160

ES 2 606 302 T3

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser
165 170 175

Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala
180 185 190

Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln
195 200 205

Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp
210 215 220

Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
225 230 235 240

Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
245 250 255

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg
260 265 270

Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp
275 280 285

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
290 295

<210> 185

<211> 267

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 185

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

ES 2 606 302 T3

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
100 105 110

Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Leu Glu
130 135 140

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
145 150 155 160

Ala Ala Ser Gly Ile Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg
165 170 175

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn
180 185 190

Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
195 200 205

Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
210 215 220

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly
225 230 235 240

Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala
245 250 255

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
260 265

<210> 186

<211> 387

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 186

```

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10          15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
          20          25          30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
          35          40          45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50          55          60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65          70          75          80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
          85          90          95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
          100          105          110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
          115          120          125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130          135          140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145          150          155          160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
          165          170          175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
          180          185          190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
          195          200          205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
210          215          220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225          230          235          240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
          245          250          255

```

ES 2 606 302 T3

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
260 265 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp
275 280 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
290 295 300

Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp
355 360 365

Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 187

<211> 387

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 187

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

ES 2 606 302 T3

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
 100 105 110
 Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 115 120 125
 Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 145 150 155 160
 Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
 165 170 175
 Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
 180 185 190
 Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
 195 200 205
 Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
 210 215 220
 Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
 225 230 235 240
 Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 245 250 255
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 260 265 270
 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 275 280 285
 Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
 290 295 300
 Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr
 305 310 315 320

ES 2 606 302 T3

Asp Ala Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
325 330 335

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr
340 345 350

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu
355 360 365

Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 188

<211> 387

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 188

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
100 105 110

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

10

ES 2 606 302 T3

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu Val Glu
 130 135 140
 Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
 145 150 155 160
 Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr Ser Met Gly Trp Phe Arg
 165 170 175
 Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Val Ala Ile Ser Lys Gly
 180 185 190
 Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu Gly Arg Phe Thr Ile Ser
 195 200 205
 Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Ile Asn Ser Leu Arg
 210 215 220
 Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ser Ser Arg Ala Tyr Gly
 225 230 235 240
 Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr Glu Tyr Trp Gly Gln Gly
 245 250 255
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 260 265 270
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
 275 280 285
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
 290 295 300
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 305 310 315 320
 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
 325 330 335
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
 340 345 350
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 355 360 365
 Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
 370 375 380
 Val Ser Ser
 385

<210> 189

<211> 375

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 189

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ala Ala
115 120 125

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
130 135 140

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
145 150 155 160

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
165 170 175

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
180 185 190

ES 2 606 302 T3

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
210 215 220

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
225 230 235 240

Val Ser Ser Ala Ala Ala Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
245 250 255

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
260 265 270

Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
275 280 285

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr
290 295 300

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn
305 310 315 320

Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
325 330 335

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe
340 345 350

Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly
355 360 365

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375

<210> 190

<211> 384

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 190

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr

ES 2 606 302 T3

20										25					30															
Ser	Met	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Phe	Val															
		35					40					45																		
Val	Ala	Ile	Ser	Lys	Gly	Gly	Tyr	Lys	Tyr	Asp	Ala	Val	Ser	Leu	Glu															
	50					55					60																			
Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu															
65					70					75					80															
Gln	Ile	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala															
				85					90					95																
Ser	Ser	Arg	Ala	Tyr	Gly	Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Leu	Ala	Asp	Thr	Tyr															
			100					105					110																	
Glu	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly															
		115					120					125																		
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly															
	130					135					140																			
Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly															
145					150					155					160															
Phe	Ala	Leu	Asp	Tyr	Tyr	Ala	Ile	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Val	Pro	Gly															
				165					170					175																
Lys	Glu	Arg	Glu	Gly	Val	Ser	Cys	Ile	Ser	Ser	Ser	Asp	Gly	Ile	Thr															
			180					185					190																	
Tyr	Tyr	Val	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn															
		195					200					205																		
Ala	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp															
	210					215					220																			
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Thr	Asp	Ser	Gly	Gly	Tyr	Ile	Asp	Tyr															
225					230					235				240																
Asp	Cys	Met	Gly	Leu	Gly	Tyr	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val															
				245					250					255																
Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln															
			260					265					270																	

ES 2 606 302 T3

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg
275 280 285

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser
290 295 300

Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile
305 310 315 320

Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
325 330 335

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met
340 345 350

Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly
355 360 365

Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375 380

<210> 191

<211> 384

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 191

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr

10

ES 2 606 302 T3

100										105					110				
Glu	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly				
		115					120					125							
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly				
	130					135					140								
Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Asn	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly				
145					150					155					160				
Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Phe	Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly				
				165					170						175				
Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Ser	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Asp	Thr				
		180						185						190					
Leu	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn				
		195					200						205						
Ala	Lys	Thr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp				
	210					215						220							
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Ile	Gly	Gly	Ser	Leu	Ser	Arg	Ser	Ser				
225					230					235					240				
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly				
			245						250						255				
Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro				
		260						265					270						
Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ala	Leu	Asp				
		275					280					285							
Tyr	Tyr	Ala	Ile	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Val	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu				
	290					295					300								
Gly	Val	Ser	Cys	Ile	Ser	Ser	Ser	Asp	Gly	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Val	Asp				
305					310					315					320				
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr				
				325					330						335				
Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr				
			340					345						350					
Tyr	Cys	Ala	Thr	Asp	Ser	Gly	Gly	Tyr	Ile	Asp	Tyr	Asp	Cys	Met	Gly				
		355					360						365						
Leu	Gly	Tyr	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser				
	370					375													

<210> 192

<211> 519

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 192

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Ala Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Val Pro Gly
165 170 175

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Ser Ser Ser Asp Gly Ile Thr

ES 2 606 302 T3

180	185	190
Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn 195 200 205		
Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp 210 215 220		
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr 225 230 235 240		
Asp Cys Met Gly Leu Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val 245 250 255		
Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln 260 265 270		
Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg 275 280 285		
Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser 290 295 300		
Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile 305 310 315 320		
Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg 325 330 335		
Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met 340 345 350		
Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly 355 360 365		
Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser 370 375 380		
Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser 385 390 395 400		
Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala 405 410 415		
Ala Ser Gly Phe Ala Leu Asp Tyr Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln 420 425 430		

ES 2 606 302 T3

Val Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Ser Ser Ser Asp
435 440 445

Gly Ile Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
450 455 460

Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
465 470 475 480

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Thr Asp Ser Gly Gly Tyr
485 490 495

Ile Asp Tyr Asp Cys Met Gly Leu Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
500 505 510

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
515

<210> 193

<211> 525

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 193

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly

10

ES 2 606 302 T3

115		120		125
Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly	130	135	140	
Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly	145	150	155	160
Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly	165	170	175	
Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr	180	185	190	
Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn	195	200	205	
Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp	210	215	220	
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe	225	230	235	240
Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly	245	250	255	
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser	260	265	270	
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly	275	280	285	
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr	290	295	300	
Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val	305	310	315	320
Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val	325	330	335	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr	340	345	350	
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys	355	360	365	

ES 2 606 302 T3

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
370 375 380

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
385 390 395 400

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
405 410 415

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
420 425 430

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
435 440 445

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
450 455 460

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
465 470 475 480

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
485 490 495

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
500 505 510

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
515 520 525

<210> 194

<211> 525

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 194

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu

10

ES 2 606 302 T3

50		55		60
Gly 65	Arg Phe Thr Ile	Ser 70	Arg Asp Asn Ala Lys 75	Asn Thr Val Tyr Leu 80
Gln 85	Ile Asn Ser Leu	Arg Pro Glu Asp 90	Thr Ala Val Tyr Tyr Cys 95	Ala
Ser 100	Ser Arg Ala Tyr	Gly Ser Ser Arg 105	Leu Arg Leu Ala Asp 110	Thr Tyr
Glu 115	Tyr Trp Gly Gln	Gly Thr Leu Val Thr 120	Val Ser Ser Gly Gly Gly 125	
Gly 130	Ser Gly Gly Gly	Ser Glu Val Gln Leu Val 135	Glu Ser Gly Gly Gly 140	
Leu 145	Val Gln Pro Gly	Asn Ser Leu Arg Leu Ser 150	Cys Ala Ala Ser Gly 160	
Phe 165	Thr Phe Ser Ser	Phe Gly Met Ser Trp 170	Val Arg Gln Ala Pro Gly 175	
Lys 180	Gly Leu Glu Trp	Val Ser Ser Ile Ser 185	Gly Ser Gly Ser Asp Thr 190	
Leu 195	Tyr Ala Asp Ser	Val Lys Gly Arg Phe Thr 200	Ile Ser Arg Asp Asn 205	
Ala 210	Lys Thr Thr Leu	Tyr Leu Gln Met Asn Ser 215	Leu Arg Pro Glu Asp 220	
Thr 225	Ala Val Tyr Tyr	Cys Thr Ile Gly Gly 230	Ser Leu Ser Arg Ser Ser 240	
Gln 245	Gly Thr Leu Val	Thr Val Ser Ser Gly Gly 250	Gly Gly Ser Gly Gly 255	
Gly 260	Ser Glu Val Gln	Leu Val Glu Ser Gly Gly 265	Gly Gly Leu Val Gln Ala 270	
Gly 275	Gly Ser Leu Arg	Leu Ser Cys Ala Ala Ser 280	Gly Phe Thr Leu Asp 285	
Asp 290	Tyr Ala Ile Gly	Trp Phe Arg Gln Ala Pro 295	Gly Lys Glu Arg Glu 300	

ES 2 606 302 T3

Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp
355 360 365

Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
385 390 395 400

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu
405 410 415

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp
420 425 430

Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg
435 440 445

Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
450 455 460

Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
465 470 475 480

Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro
485 490 495

Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr
500 505 510

Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
515 520 525

<210> 195

<211> 525

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 195

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr
180 185 190

Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn
195 200 205

Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe
225 230 235 240

ES 2 606 302 T3

Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly
 245 250 255
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 260 265 270
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
 275 280 285
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
 290 295 300
 Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 305 310 315 320
 Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
 325 330 335
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
 340 345 350
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 355 360 365
 Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
 370 375 380
 Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
 385 390 395 400
 Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu
 405 410 415
 Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp
 420 425 430
 Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ser Ile Arg
 435 440 445
 Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
 450 455 460
 Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
 465 470 475 480
 Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro
 485 490 495
 Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr
 500 505 510
 Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
 515 520 525

<210> 196
 <211> 515
 <212> PRT
 <213> Artificial

ES 2 606 302 T3

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 196

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly
165 170 175

ES 2 606 302 T3

Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr
 180 185 190
 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn
 195 200 205
 Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp
 210 215 220
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu
 225 230 235 240
 Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
 245 250 255
 Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val
 260 265 270
 Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
 275 280 285
 Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe
 290 295 300
 Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys
 305 310 315 320
 Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
 325 330 335
 Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser
 340 345 350
 Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val
 355 360 365
 Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly
 370 375 380
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
 385 390 395 400
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
 405 410 415
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
 420 425 430

ES 2 606 302 T3

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
435 440 445

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
450 455 460

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
465 470 475 480

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
485 490 495

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
500 505 510

Val Ser Ser
515

<210> 197

<211> 515

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 197

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

10

ES 2 606 302 T3

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 130 135 140
 Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 145 150 155 160
 Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 165 170 175
 Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
 180 185 190
 Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 195 200 205
 Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
 210 215 220
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
 225 230 235 240
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
 260 265 270
 Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp
 275 280 285
 Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu
 290 295 300
 Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr
 325 330 335
 Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 340 345 350
 Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu
 355 360 365

ES 2 606 302 T3

Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
385 390 395 400

Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
405 410 415

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala
420 425 430

Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp
450 455 460

Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
465 470 475 480

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys
485 490 495

Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
500 505 510

Val Ser Ser
515

<210> 198

<211> 515

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 198

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

10

ES 2 606 302 T3

Val	Ala	Ile	Ser	Lys	Gly	Gly	Tyr	Lys	Tyr	Asp	Ala	Val	Ser	Leu	Glu	50	55	60
Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	65	70	75
Gln	Ile	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	85	90	95
Ser	Ser	Arg	Ala	Tyr	Gly	Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Leu	Ala	Asp	Thr	Tyr	100	105	110
Glu	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	115	120	125
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	130	135	140
Leu	Val	Gln	Ala	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	145	150	155
Phe	Thr	Phe	Asp	Asp	Tyr	Ala	Leu	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Ala	Gly	165	170	175
Lys	Glu	Arg	Glu	Gly	Val	Ser	Cys	Ile	Arg	Cys	Ser	Asp	Gly	Ser	Thr	180	185	190
Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Asp	Asn	195	200	205
Ala	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	210	215	220
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Ser	Ile	Val	Pro	Arg	Ser	Lys	Leu	225	230	235
Glu	Pro	Tyr	Glu	Tyr	Asp	Ala	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	245	250	255
Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	260	265	270
Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Asn	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	275	280	285
Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Phe	Gly	Met	Ser	Trp	Val	290	295	300

ES 2 606 302 T3

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly
305 310 315 320

Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
325 330 335

Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser
340 345 350

Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser
355 360 365

Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly
370 375 380

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly
385 390 395 400

Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
405 410 415

Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala
420 425 430

Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser
435 440 445

Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp
450 455 460

Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
465 470 475 480

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys
485 490 495

Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
500 505 510

Val Ser Ser
515

<210> 199

<211> 382

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 199

```

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1          5          10          15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
          20          25          30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
          35          40          45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50          55          60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65          70          75          80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
          85          90          95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
          100          105          110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
          115          120          125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
          130          135          140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145          150          155          160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
          165          170          175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
          180          185          190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
          195          200          205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
          210          215          220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225          230          235          240

```

ES 2 606 302 T3

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala
260 265 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp
275 280 285

Asp Tyr Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu
290 295 300

Gly Val Ser Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu
355 360 365

Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375 380

<210> 200

<211> 387

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 200

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

ES 2 606 302 T3

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 130 135 140
 Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 145 150 155 160
 Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 165 170 175
 Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
 180 185 190
 Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 195 200 205
 Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
 210 215 220
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
 225 230 235 240
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
 260 265 270
 Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Leu Asp
 275 280 285
 Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
 290 295 300
 Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
 305 310 315 320

ES 2 606 302 T3

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
355 360 365

Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 201

<211> 387

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 201

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

10

ES 2 606 302 T3

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 130 135 140
 Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 145 150 155 160
 Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 165 170 175
 Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
 180 185 190
 Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 195 200 205
 Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
 210 215 220
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
 225 230 235 240
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
 260 265 270
 Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Thr Leu Asp
 275 280 285
 Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
 290 295 300
 Gly Val Ser Ser Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
 325 330 335
 Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
 340 345 350
 Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
 355 360 365
 Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
 370 375 380
 Val Ser Ser
 385

<210> 202
 <211> 387
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia de lama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 202

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
180 185 190

ES 2 606 302 T3

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
195 200 205

Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
210 215 220

Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
225 230 235 240

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
245 250 255

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
260 265 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Leu Asp
275 280 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
290 295 300

Gly Val Ser Ala Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
355 360 365

Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 203

<211> 387

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 203

10 Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

ES 2 606 302 T3

1		5		10		15													
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Arg	Thr	Phe	Ser	Ser	Tyr				
		20						25					30						
Ser	Met	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Phe	Val				
		35					40					45							
Val	Ala	Ile	Ser	Lys	Gly	Gly	Tyr	Lys	Tyr	Asp	Ala	Val	Ser	Leu	Glu				
	50					55					60								
Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu				
65					70					75					80				
Gln	Ile	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala				
				85					90					95					
Ser	Ser	Arg	Ala	Tyr	Gly	Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Leu	Ala	Asp	Thr	Tyr				
			100					105					110						
Glu	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly				
		115					120					125							
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly				
	130					135					140								
Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Asn	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly				
145					150					155					160				
Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Phe	Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly				
				165					170					175					
Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Ser	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Asp	Thr				
		180						185					190						
Leu	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn				
	195					200						205							
Ala	Lys	Thr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp				
	210					215					220								
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Ile	Gly	Gly	Ser	Leu	Ser	Arg	Ser	Ser				
225					230					235					240				
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly				
			245						250					255					

ES 2 606 302 T3

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
260 265 270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Leu Asp
275 280 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
290 295 300

Gly Val Ser Ala Ile Arg Glu Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
355 360 365

Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 204

<211> 387

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 204

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu

10

ES 2 606 302 T3

65		70		75		80									
Gln	Ile	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala
			85					90						95	
Ser	Ser	Arg	Ala	Tyr	Gly	Ser	Ser	Arg	Leu	Arg	Leu	Ala	Asp	Thr	Tyr
			100					105					110		
Glu	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly
		115					120					125			
Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly
	130					135					140				
Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Asn	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly
145					150					155					160
Phe	Thr	Phe	Ser	Ser	Phe	Gly	Met	Ser	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly
				165					170					175	
Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	Ser	Ser	Ile	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Asp	Thr
		180						185					190		
Leu	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn
		195					200						205		
Ala	Lys	Thr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp
	210					215					220				
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Ile	Gly	Gly	Ser	Leu	Ser	Arg	Ser	Ser
225					230					235					240
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
			245						250					255	
Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro
			260					265					270		
Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Ile	Thr	Leu	Asp
		275					280					285			
Asp	Tyr	Ala	Ile	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu
	290					295					300				
Gly	Val	Ser	Ala	Ile	Arg	Ser	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp
305					310					315					320

ES 2 606 302 T3

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
355 360 365

Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 205

<211> 387

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 205

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly

10

ES 2 606 302 T3

130		135		140
Leu Val Gln Pro Gly	Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly			
145	150	155		160
Phe Thr Phe Ser Ser	Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly			
	165	170		175
Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser	Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr			
	180	185		190
Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn				
	195	200	205	
Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp				
	210	215	220	
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser				
	225	230	235	240
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly				
	245	250		255
Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro				
	260	265		270
Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Thr Leu Asp				
	275	280	285	
Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu				
	290	295	300	
Gly Val Ser Ala Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp				
	305	310	315	320
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr				
	325	330		335
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr				
	340	345		350
Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp				
	355	360	365	
Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr				
	370	375	380	

Val Ser Ser
385

<210> 206
<211> 387
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de lama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 206

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
180 185 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

ES 2 606 302 T3

195	200	205
Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp 210 215 220		
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser 225 230 235 240		
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly 245 250 255		
Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro 260 265 270		
Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Thr Leu Asp 275 280 285		
Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu 290 295 300		
Gly Val Ser Ala Ile Arg Glu Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp 305 310 315 320		
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr 325 330 335		
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr 340 345 350		
Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp 355 360 365		
Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr 370 375 380		

Val Ser Ser
385

<210> 207

<211> 387

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 207

10	Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
	1 5 10 15

ES 2 606 302 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 130 135 140
 Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 145 150 155 160
 Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 165 170 175
 Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
 180 185 190
 Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 195 200 205
 Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
 210 215 220
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
 225 230 235 240
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro

ES 2 606 302 T3

260

265

270

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Thr Leu Asp
275 280 285

Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
290 295 300

Gly Val Ser Ala Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
305 310 315 320

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp
355 360 365

Tyr Pro Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
370 375 380

Val Ser Ser
385

<210> 208

<211> 525

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 208

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

10

ES 2 606 302 T3

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 130 135 140
 Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 145 150 155 160
 Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
 165 170 175
 Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
 180 185 190
 Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn
 195 200 205
 Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
 210 215 220
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser
 225 230 235 240
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
 245 250 255
 Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
 260 265 270
 Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp
 275 280 285
 Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
 290 295 300
 Gly Val Ser Ala Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp
 305 310 315 320
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr

ES 2 606 302 T3

325										330					335				
Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr				
			340						345						350				
Tyr	Cys	Ala	Ala	Val	Pro	Ala	Gly	Arg	Leu	Arg	Phe	Gly	Glu	Gln	Trp				
		355						360						365					
Tyr	Pro	Leu	Tyr	Glu	Tyr	Asp	Ala	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr				
		370						375						380					
Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu				
385						390						395						400	
Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu				
				405						410						415			
Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Leu	Asp	Asp	Tyr	Ala	Ile	Gly	Trp				
			420						425						430				
Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Gly	Val	Ser	Ala	Ile	Arg				
		435						440						445					
Asp	Asn	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe				
		450						455						460					
Thr	Ile	Ser	Ser	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn				
465						470						475						480	
Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala	Val	Pro				
				485						490						495			
Ala	Gly	Arg	Leu	Arg	Phe	Gly	Glu	Gln	Trp	Tyr	Pro	Leu	Tyr	Glu	Tyr				
			500						505						510				
Asp	Ala	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser							
		515						520						525					

<210> 209

<211> 525

<212> PRT

5 <213> Artificial

$\langle 220 \rangle$

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 209

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

ES 2 606 302 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
 35 40 45
 Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
 50 55 60
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
 65 70 75 80
 Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
 85 90 95
 Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
 100 105 110
 Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
 115 120 125
 Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
 130 135 140
 Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
 145 150 155 160
 Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly
 165 170 175
 Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ala Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr
 180 185 190
 Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn
 195 200 205
 Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp
 210 215 220
 Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe
 225 230 235 240
 Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly
 245 250 255
 Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser

ES 2 606 302 T3

260	265	270
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly		
275	280	285
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr		
290	295	300
Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val		
305	310	315
Ser Ala Ile Arg Asp Asn Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val		
	325	330
		335
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr		
	340	345
		350
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys		
	355	360
		365
Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro		
	370	375
		380
Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser		
385	390	395
		400
Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu		
	405	410
		415
Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys		
	420	425
		430
Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg		
	435	440
		445
Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser		
	450	455
		460
Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile		
465	470	475
		480
Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu		
	485	490
		495
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu		
	500	505
		510
Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser		
	515	520
		525

<210> 210

<211> 515

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 210

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly
145 150 155 160

Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly
165 170 175

Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr
180 185 190

Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn

ES 2 606 302 T3

195					200					205					
Ala	Lys	Thr	Thr	Leu	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp
210						215					220				
Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Thr	Ile	Gly	Gly	Ser	Leu	Ser	Arg	Ser	Ser
225					230					235					240
Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly
				245					250					255	
Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Gln	Pro
			260					265					270		
Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr	Phe	Asp
		275					280					285			
Asp	Tyr	Ala	Leu	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu
	290					295					300				
Gly	Val	Ser	Cys	Ile	Arg	Cys	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp
305					310					315					320
Ser	Val	Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Ser	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr
				325					330					335	
Val	Tyr	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr
			340					345					350		
Tyr	Cys	Ala	Ala	Ser	Ile	Val	Pro	Arg	Ser	Lys	Leu	Glu	Pro	Tyr	Glu
		355					360					365			
Tyr	Asp	Ala	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser	Gly	Gly
	370					375					380				
Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu	Val	Gln	Leu	Val	Glu	Ser	Gly	Gly
385					390					395					400
Gly	Leu	Val	Gln	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser
				405					410					415	
Gly	Phe	Thr	Phe	Asp	Asp	Tyr	Ala	Leu	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro
			420					425					430		
Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Gly	Val	Ser	Cys	Ile	Arg	Cys	Ser	Gly	Gly	Ser
		435					440					445			

ES 2 606 302 T3

Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp
450 455 460

Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu
465 470 475 480

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys
485 490 495

Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
500 505 510

Val Ser Ser
515

<210> 211

<211> 515

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 211

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly

10

ES 2 606 302 T3

130					135					140					
Leu 145	Val	Gln	Pro	Gly	Gly 150	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser 155	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly 160
Phe	Thr	Phe	Asp	Asp 165	Tyr	Ala	Leu	Gly	Trp 170	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro 175	Gly
Lys	Glu	Arg	Glu 180	Gly	Val	Ser	Cys	Ile 185	Arg	Cys	Ser	Gly 190	Gly	Ser	Thr
Tyr	Tyr	Ala 195	Asp	Ser	Val	Lys	Gly 200	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser 205	Ser	Asp	Asn
Ser	Lys 210	Asn	Thr	Val	Tyr	Leu 215	Gln	Met	Asn	Ser	Leu 220	Arg	Pro	Glu	Asp
Thr 225	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys 230	Ala	Ala	Ser	Ile	Val 235	Pro	Arg	Ser	Lys	Leu 240
Glu	Pro	Tyr	Glu	Tyr 245	Asp	Ala	Trp	Gly	Gln 250	Gly	Thr	Leu	Val	Thr 255	Val
Ser	Ser	Gly	Gly 260	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly 265	Gly	Ser	Glu	Val	Gln 270	Leu	Val
Glu	Ser	Gly 275	Gly	Gly	Leu	Val	Gln 280	Pro	Gly	Gly	Ser	Leu 285	Arg	Leu	Ser
Cys 290	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Thr 295	Phe	Asp	Asp	Tyr	Ala 300	Leu	Gly	Trp	Phe
Arg 305	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys 310	Glu	Arg	Glu	Gly	Val 315	Ser	Cys	Ile	Arg	Cys 320
Ser	Gly	Gly	Ser	Thr 325	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser 330	Val	Lys	Gly	Arg	Phe 335	Thr
Ile	Ser	Ser	Asp 340	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr 345	Val	Tyr	Leu	Gln 350	Met	Asn	Ser
Leu	Arg	Pro 355	Glu	Asp	Thr	Ala	Val 360	Tyr	Tyr	Cys	Ala	Ala 365	Ser	Ile	Val
Pro	Arg 370	Ser	Lys	Leu	Glu	Pro 375	Tyr	Glu	Tyr	Asp	Ala 380	Trp	Gly	Gln	Gly

ES 2 606 302 T3

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
385 390 395 400

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
405 410 415

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
420 425 430

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
435 440 445

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
450 455 460

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
465 470 475 480

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
485 490 495

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
500 505 510

Val Ser Ser
515

<210> 212

<211> 384

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 212

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu

10

ES 2 606 302 T3

65				70				75				80			
Gln	Ile	Asn	Ser	Leu 85	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr 90	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys 95	Ala
Ser	Ser	Arg	Ala 100	Tyr	Gly	Ser	Ser	Arg 105	Leu	Arg	Leu	Ala	Asp 110	Thr	Tyr
Glu	Tyr	Trp 115	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu 120	Val	Thr	Val	Ser	Ser 125	Gly	Gly	Gly
Gly	Ser 130	Gly	Gly	Gly	Ser	Glu 135	Val	Gln	Leu	Val	Glu 140	Ser	Gly	Gly	Gly
Leu 145	Val	Gln	Pro	Gly	Asn 150	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser 155	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly 160
Phe	Thr	Phe	Ser	Ser 165	Phe	Gly	Met	Ser	Trp 170	Val	Arg	Gln	Ala	Pro 175	Gly
Lys	Gly	Leu	Glu 180	Trp	Val	Ser	Ser	Ile 185	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser 190	Asp	Thr
Leu	Tyr	Ala 195	Asp	Ser	Val	Lys	Gly 200	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser 205	Arg	Asp	Asn
Ala	Lys 210	Thr	Thr	Leu	Tyr	Leu 215	Gln	Met	Asn	Ser	Leu 220	Arg	Pro	Glu	Asp
Thr 225	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys 230	Thr	Ile	Gly	Gly	Ser 235	Leu	Ser	Arg	Ser	Ser 240
Gln	Gly	Thr	Leu	Val 245	Thr	Val	Ser	Ser	Gly 250	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly 255	Gly
Gly	Ser	Glu	Val 260	Gln	Leu	Val	Glu	Ser 265	Gly	Gly	Gly	Leu	Val 270	Gln	Pro
Gly	Gly	Ser 275	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys 280	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe 285	Ala	Leu	Asp
Tyr	Tyr 290	Ala	Ile	Gly	Trp	Phe 295	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly 300	Lys	Glu	Arg	Glu
Gly 305	Val	Ser	Cys	Ile 310	Ser	Ser	Ser	Gly	Gly	Ile 315	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp 320

ES 2 606 302 T3

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr
325 330 335

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr
340 345 350

Tyr Cys Ala Thr Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Ser Gly
355 360 365

Leu Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375 380

<210> 213

<211> 525

<212> PRT

5 <213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 213

Asp Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

Ser Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
35 40 45

Val Ala Ile Ser Lys Gly Gly Tyr Lys Tyr Asp Ala Val Ser Leu Glu
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65 70 75 80

Gln Ile Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
85 90 95

Ser Ser Arg Ala Tyr Gly Ser Ser Arg Leu Arg Leu Ala Asp Thr Tyr
100 105 110

Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
130 135 140

Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly

10

ES 2 606 302 T3

145		150		155		160
Phe Thr Phe Ser Ser	Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly					
	165		170			175
Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr						
	180		185			190
Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn						
	195		200			205
Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp						
	210		215			220
Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser						
	225		230			235
Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly						
	245		250			255
Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro						
	260		265			270
Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp						
	275		280			285
Asp Tyr Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu						
	290		295			300
Gly Val Ser Ala Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp						
	305		310			315
Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr						
	325		330			335
Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr						
	340		345			350
Tyr Cys Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp						
	355		360			365
Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr						
	370		375			380
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu						
	385		390			395
						400

ES 2 606 302 T3

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
405 410 415

Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr Ala Ile Gly Trp
420 425 430

Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ser Ala Ile Arg
435 440 445

Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe
450 455 460

Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn
465 470 475 480

Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Pro
485 490 495

Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr Glu Tyr
500 505 510

Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
515 520 525

<210> 214

<211> 124

<212> PRT

5 <213> Lama glama

<400> 214

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Ala Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120

10 <210> 215

<211> 126

<212> PRT

<213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 215

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Leu Asp Tyr Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Val Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

Ser Cys Ile Ser Ser Ser Asp Gly Ile Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Met Gly Leu Gly
100 105 110

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 216

<211> 129

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 216

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Asp Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
100 105 110

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser
115 120 125

10 Ser

<210> 217
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Secuencia de lama mutada

<400> 217
 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
 1 5 10 15
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Leu Asp Asp Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
 35 40 45
 Ser Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
 100 105 110
 Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 115 120 125

10 Ser
 <210> 218
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> Artificial

15 <220>
 <223> Secuencia de lama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 218

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 219

<211> 126

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 219

10 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1					5					10					15				
Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Phe	Ala	Leu	Asp	Tyr	Tyr				
			20					25					30						
Ala	Ile	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Gly	Val				
			35					40					45						
Ser	Cys	Ile	Ser	Ser	Ser	Asp	Gly	Ile	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val				
		50					55					60							
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ser	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr				
65					70					75					80				
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys				
			85					90					95						
Ala	Thr	Asp	Ser	Gly	Gly	Tyr	Ile	Asp	Tyr	Asp	Cys	Met	Gly	Leu	Gly				
			100					105					110						
Tyr	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	Val	Thr	Val	Ser	Ser						
		115					120					125							

<210> 220
<211> 124
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de lama mutada

<400> 220
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Asp Asp Tyr
20 25 30

Ala Leu Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp
100 105 110

Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 221
<211> 126

<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de lama mutada

5 <400> 221
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15
Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Ala Leu Asp Tyr Tyr
20 25 30
Ala Ile Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
35 40 45
Ser Cys Ile Ser Ser Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95
Ala Thr Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Ser Gly Leu Gly
100 105 110
Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120 125

<210> 222
<211> 129
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Secuencia de lama mutada

<400> 222
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

ES 2 606 302 T3

1	5	10	15
Ser Leu Arg	Leu Ser Cys Ala Val	Ser Gly Ile Thr Leu	Asp Asp Tyr
	20	25	30
Ala Ile Gly	Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val		
	35	40	45
Ser Ala Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val			
50	55	60	
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr			
65	70	75	80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys			
	85	90	95
Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp Tyr Pro			
	100	105	110
Ile Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser			
115	120	125	

Ser

<210> 223

<211> 129

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 223

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly
1 5 10 15

Ser Leu Arg	Leu Ser Cys Ala Ala	Ser Gly Phe Thr Leu	Asp Asp Tyr
	20	25	30

Ala Ile Gly	Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val
	35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Ser Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr
65 70 75 80

10

ES 2 606 302 T3

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Ala Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro
100 105 110

Leu Tyr Glu Tyr Asp Ala Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
115 120 125

Ser

<210> 224

<211> 5

5 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 224

Asp Tyr Ala Leu Gly

1 5

<210> 225

10 <211> 17

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 225

Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

15 <210> 226

<211> 15

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 226

Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala

20 1 5 10 15

<210> 227

<211> 5

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 227

Tyr Tyr Ala Ile Gly

1 5

<210> 228

<211> 17

<212> PRT

30 <213> Lama glama

<400> 228

Cys Ile Ser Ser Ser Asp Gly Ile Thr Tyr Tyr Val Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

Gly

<210> 229

<211> 17

35 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 229
 Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Met Gly Leu Gly Tyr Asp
 1 5 10 15

Tyr

<210> 230
 <211> 5
 5 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 230
 Asp Tyr Ala Ile Gly
 1 5

10 <210> 231
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 231
 Cys Ile Arg Asp Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

15 <210> 232
 <211> 20
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 232
 Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr
 1 5 10 15

20 Glu Tyr Asp Ala
 20

<210> 233
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Lama glama

25 <400> 233
 Asp Tyr Ala Ile Gly
 1 5

<210> 234
 <211> 17
 <212> PRT
 30 <213> Lama glama

<400> 234
 Ser Ile Arg Asp Asn Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

<210> 235
 <211> 20
 35 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 235
Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr
1 5 10 15

Glu Tyr Asp Ala
20

<210> 236
<211> 5
5 <212> PRT
<213> Lama glama

<400> 236
Asp Tyr Ala Leu Gly
1 5

<210> 237
10 <211> 17
<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 237
Cys Ile Arg Cys Ser Asp Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

15 <210> 238
<211> 15
<212> PRT
<213> Lama glama

<400> 238
Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala
20 1 5 10 15

<210> 239
<211> 5
<212> PRT
<213> Lama glama

25 <400> 239
Tyr Tyr Ala Ile Gly
1 5

<210> 240
<211> 17
<212> PRT
30 <213> Lama glama

<400> 240
Cys Ile Ser Ser Ser Asp Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 241
<211> 17
35 <212> PRT
<213> Lama glama

<400> 241
Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Met Gly Leu Gly Tyr Asp
1 5 10 15

Tyr

<210> 242
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Lama glama
 5 <400> 242
 Asp Tyr Ala Leu Gly
 1 5
 <210> 243
 <211> 17
 <212> PRT
 10 <213> Lama glama
 <400> 243
 Cys Ile Arg Cys Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly
 <210> 244
 <211> 15
 15 <212> PRT
 <213> Lama glama
 <400> 244
 Ser Ile Val Pro Arg Ser Lys Leu Glu Pro Tyr Glu Tyr Asp Ala
 1 5 10 15
 <210> 245
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Lama glama
 <400> 245
 Tyr Tyr Ala Ile Gly
 1 5
 25 <210> 246
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Lama glama
 <400> 246
 Cys Ile Ser Ser Ser Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 30 Gly
 <210> 247
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial
 35 <220>
 <223> Secuencia de lama mutada
 <400> 247
 Asp Ser Gly Gly Tyr Ile Asp Tyr Asp Cys Ser Gly Leu Gly Tyr Asp
 1 5 10 15
 Tyr
 <210> 248
 40 <211> 5

<212> PRT
 <213> Lama glama

 <400> 248
 Asp Tyr Ala Ile Gly
 1 5

 5 <210> 249
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Artificial

 <220>
 10 <223> Secuencia de lama mutada

 <400> 249
 Ala Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

 Gly

 <210> 250
 <211> 20
 15 <212> PRT
 <213> Artificial

 <220>
 <223> Secuencia de lama mutada

 <400> 250
 Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Tyr Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Ile Tyr
 20 1 5 10 15

 Glu Tyr Asp Ala
 20

 <210> 251
 <211> 5
 25 <212> PRT
 <213> Lama glama

 <400> 251
 Asp Tyr Ala Ile Gly
 1 5

 <210> 252
 <211> 17
 30 <212> PRT
 <213> Artificial

 <220>
 <223> Secuencia de lama mutada

 35 <400> 252
 Ala Ile Arg Ser Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

 Gly

 <210> 253
 <211> 20
 40 <212> PRT
 <213> Artificial

 <220>
 <223> Secuencia de lama mutada

ES 2 606 302 T3

<400> 253

Val Pro Ala Gly Arg Leu Arg Phe Gly Glu Gln Trp Tyr Pro Leu Tyr
1 5 10 15

Glu Tyr Asp Ala
20

<210> 254

<211> 115

5 <212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Secuencia de lama mutada

<400> 254

10 Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe
20 25 30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
85 90 95

Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr
100 105 110

Val Ser Ser
115

<210> 255

<211> 5

15 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 255

Ser Phe Gly Met Ser
1 5

<210> 256

20 <211> 17

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 256

Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 257
 <211> 6
 <212> PRT
 <213> Lama glama

5 <400> 257
 Gly Gly Ser Leu Ser Arg
 1 5

<210> 258
 <211> 5
 <212> PRT
 10 <213> Lama glama

<400> 258
 Leu Asn Leu Met Gly
 1 5

<210> 259
 <211> 16
 15 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 259
 Thr Ile Thr Val Gly Asp Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

20 <210> 260
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 260
 Arg Arg Thr Trp His Ser Glu Leu
 1 5

25 <210> 261
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 261
 Ile Asn Leu Leu Gly
 30 1 5

<210> 262
 <211> 16
 <212> PRT
 <213> Lama glama

35 <400> 262
 Thr Ile Thr Val Gly Asp Ser Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly
 1 5 10 15

<210> 263
 <211> 8
 <212> PRT
 40 <213> Lama glama

<400> 263
 Arg Arg Thr Trp His Ser Glu Leu
 1 5

<210> 264
 <211> 5
 45 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 264
 Ser Phe Gly Met Ser
 1 5

5 <210> 265
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 265
 Ser Ile Asn Gly Arg Gly Asp Asp Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

10 <210> 266
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 266
 Gly Arg Ser Val Ser Arg Ser
 1 5

15 <210> 267
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 267
 Ser Phe Gly Met Ser
 20 1 5

<210> 268
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Lama glama

25 <400> 268
 Ala Ile Ser Ala Asp Ser Ser Asp Lys Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15

Gly

30 <210> 269
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 269
 Gly Arg Gly Ser Pro
 1 5

35 <210> 270
 <211> 5
 <212> PRT
 <213> Lama glama

<400> 270
 Ser Phe Gly Met Ser
 1 5

40 <210> 271
 <211> 17
 <212> PRT
 <213> Lama glama

ES 2 606 302 T3

<400> 271
Ala Ile Ser Ala Asp Ser Ser Asp Lys Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 272

<211> 5

5 <212> PRT

<213> Lama glama

<400> 272

Gly Arg Gly Ser Pro

1 5

<210> 273

10 <211> 5

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 273

Asn Tyr Trp Met Tyr

1 5

15 <210> 274

<211> 17

<212> PRT

<213> Lama glama

<400> 274

Arg Ile Ser Thr Gly Gly Gly Tyr Ser Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

1 5 10 15

20 Gly

<210> 275

<211> 13

<212> PRT

<213> Lama glama

25 <400> 275

Asp Arg Glu Ala Gln Val Asp Thr Leu Asp Phe Asp Tyr

1 5 10

REIVINDICACIONES

1. Una molécula de unión biespecífica que comprende

- un dominio variable individual de inmunoglobulina de unión a VEGF,
- un dominio variable individual de inmunoglobulina de unión a albúmina sérica, y
- un dominio variable individual de inmunoglobulina de unión a Ang2,

en donde

- dicho dominio variable individual de inmunoglobulina de unión a VEGF tiene las siguientes secuencias de CDR:

CDR1: SYSMG

CDR2: AISKGGYKYDAVSLEG

CDR3: SRAYGSSRLRLADTYEY,

- dicho dominio variable individual de inmunoglobulina de unión a albúmina sérica tiene las siguientes secuencias de CDR:

CDR1: SFGMS (SEQ ID NO:255)

CDR2: SISGSGSDTLYADSVKG (SEQ ID NO:256) CDR3: GGSLSR (SEQ ID NO:257),

- dicho dominio variable individual de inmunoglobulina de unión a Ang2 tiene las siguientes secuencias de CDR:

CDR1: DYAIG (SEQ ID NO:248)

CDR2: AIRSSGGSTYYADSVKG (SEQ ID NO:249)

CDR3: VPAGRLRYGEQWYPIYEYDA (SEQ ID NO:250),

y donde dicho dominio variable individual de inmunoglobulina de unión a Ang2 se une con Ang2 con una potencia al menos 5.000 veces más alta que a Ang1 o a Ang4.

2. La molécula de unión biespecífica de la reivindicación 1, en la que dichos dominios variables individuales de inmunoglobulina son VHH.

3. Una molécula de unión biespecífica que tiene la secuencia de aminoácidos de acuerdo con SEQ ID NO: 207 (VEGFANGBII00022)..

4. Una molécula de ácido nucleico que codifica una molécula de unión biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3.

5. Un vector que contiene una molécula de ácido nucleico de la reivindicación 4.

6. Una célula hospedadora que contiene un vector de la reivindicación 5.

7. Una composición farmacéutica que contiene al menos una molécula de unión biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3 como ingrediente activo.

8. La composición farmacéutica de la reivindicación 7 para uso en el tratamiento de cáncer o para uso en el tratamiento de enfermedades oftálmicas.

9. Un método de fabricación de una molécula de unión biespecífica de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, que comprende las etapas de:

- cultivar células hospedadoras según la reivindicación 6 en condiciones que permiten la expresión de dicha molécula de unión biespecífica; y
- recuperar o aislar del cultivo dicha molécula de unión biespecífica expresada por dichas células hospedadoras.

10. El método de la reivindicación 9, que comprende adicionalmente la etapa de:

- purificar o modificar adicionalmente o formular dicha molécula de unión biespecífica.

Figura 1

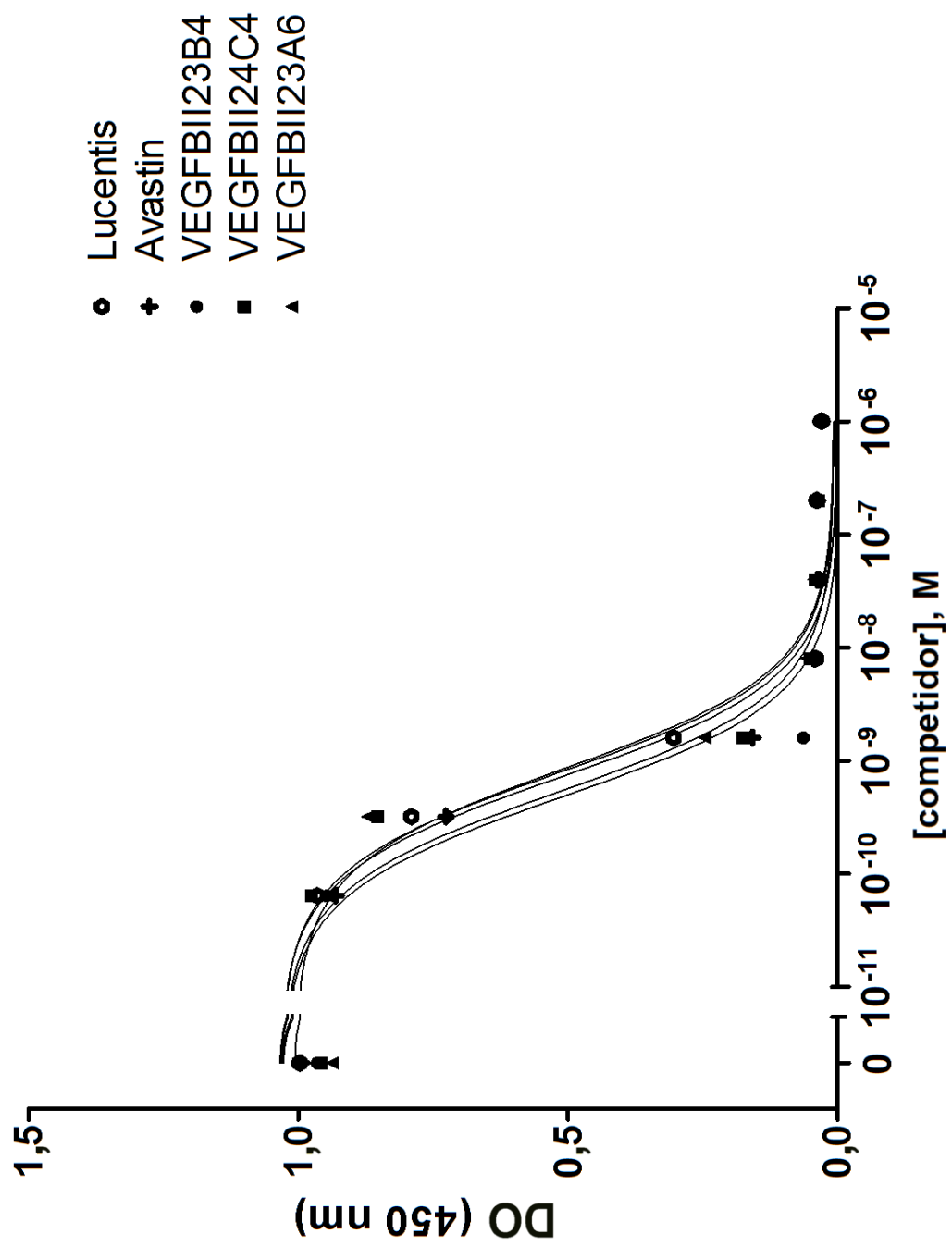


Figura 2

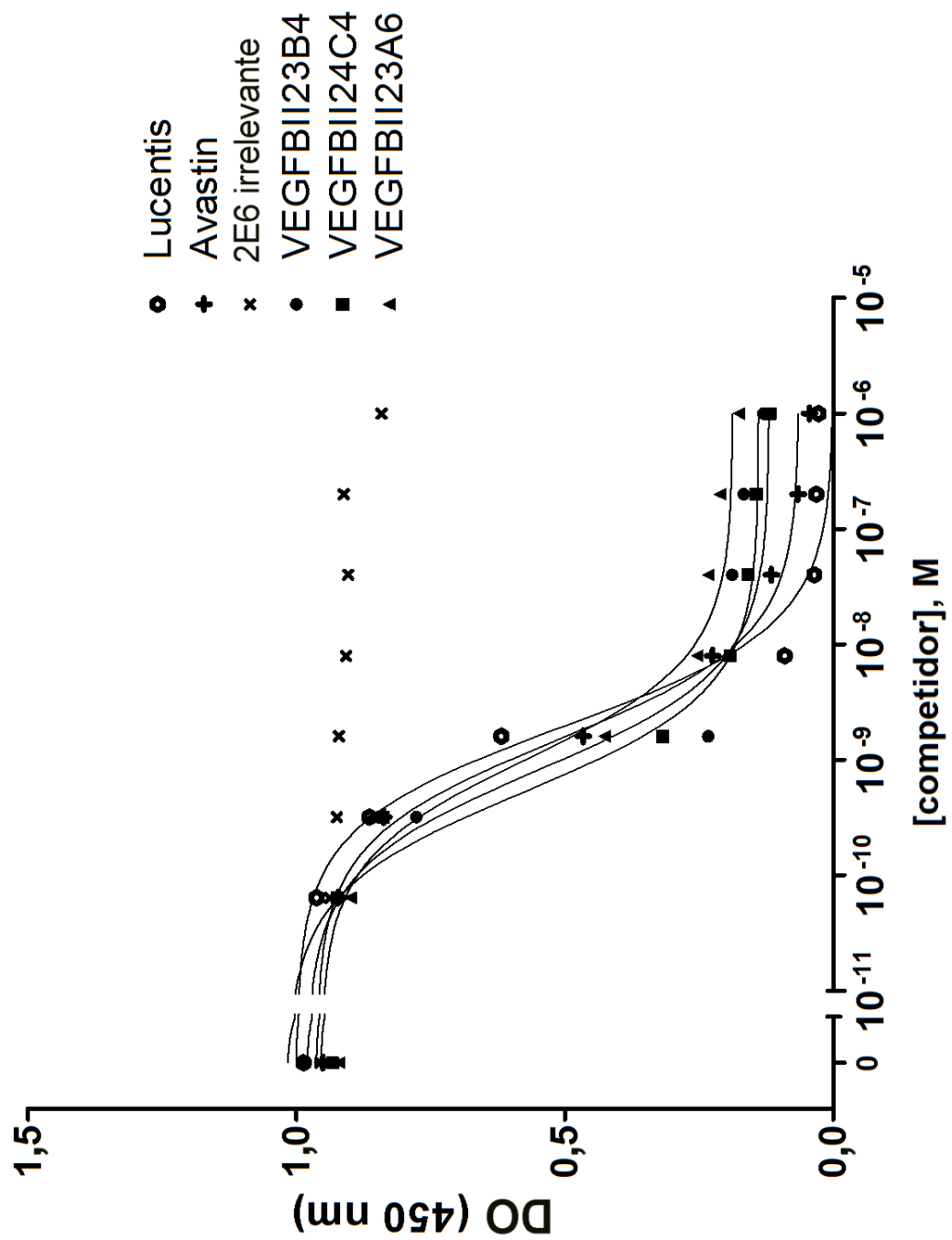


Figura 3

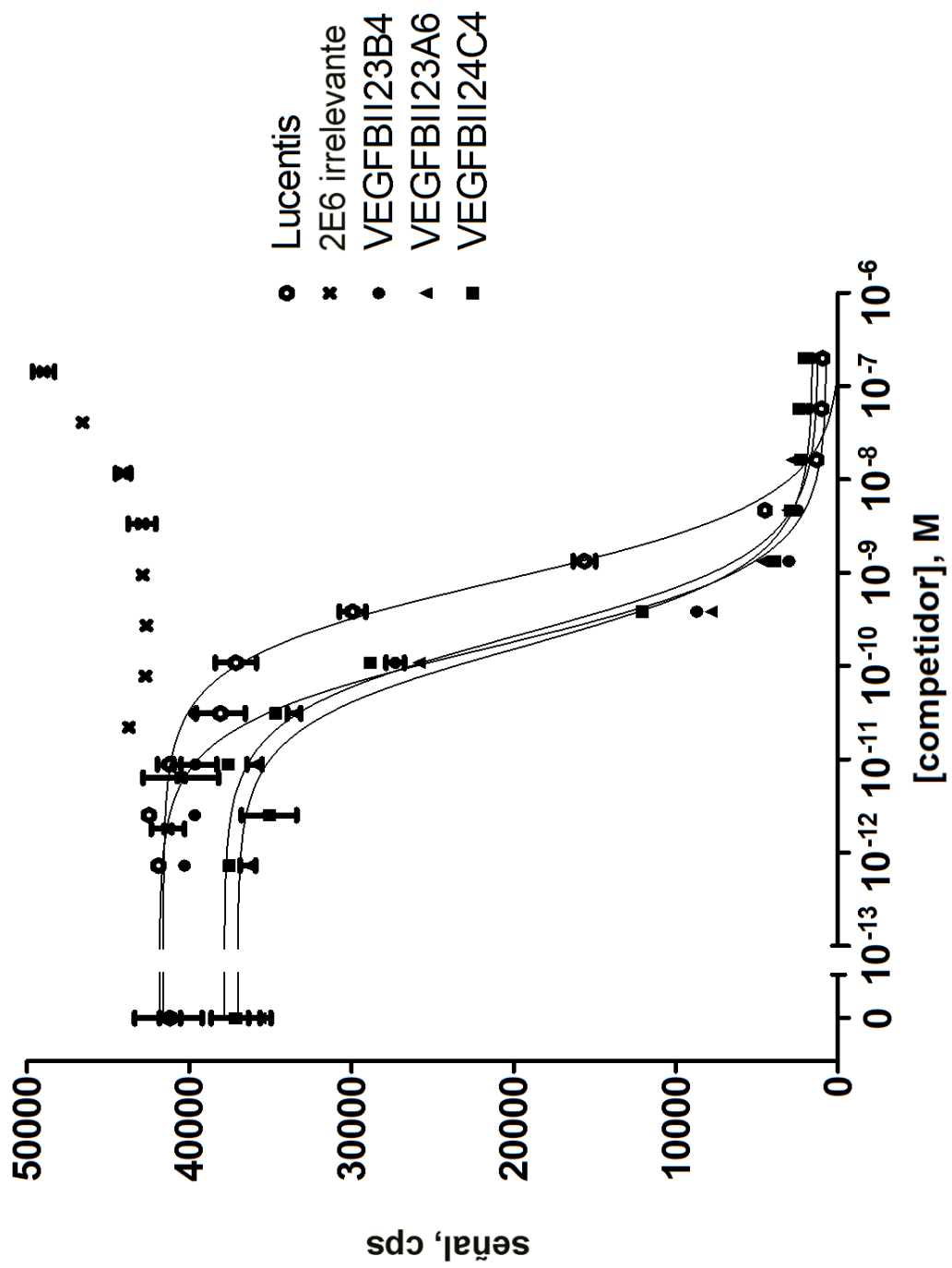


Figura 4

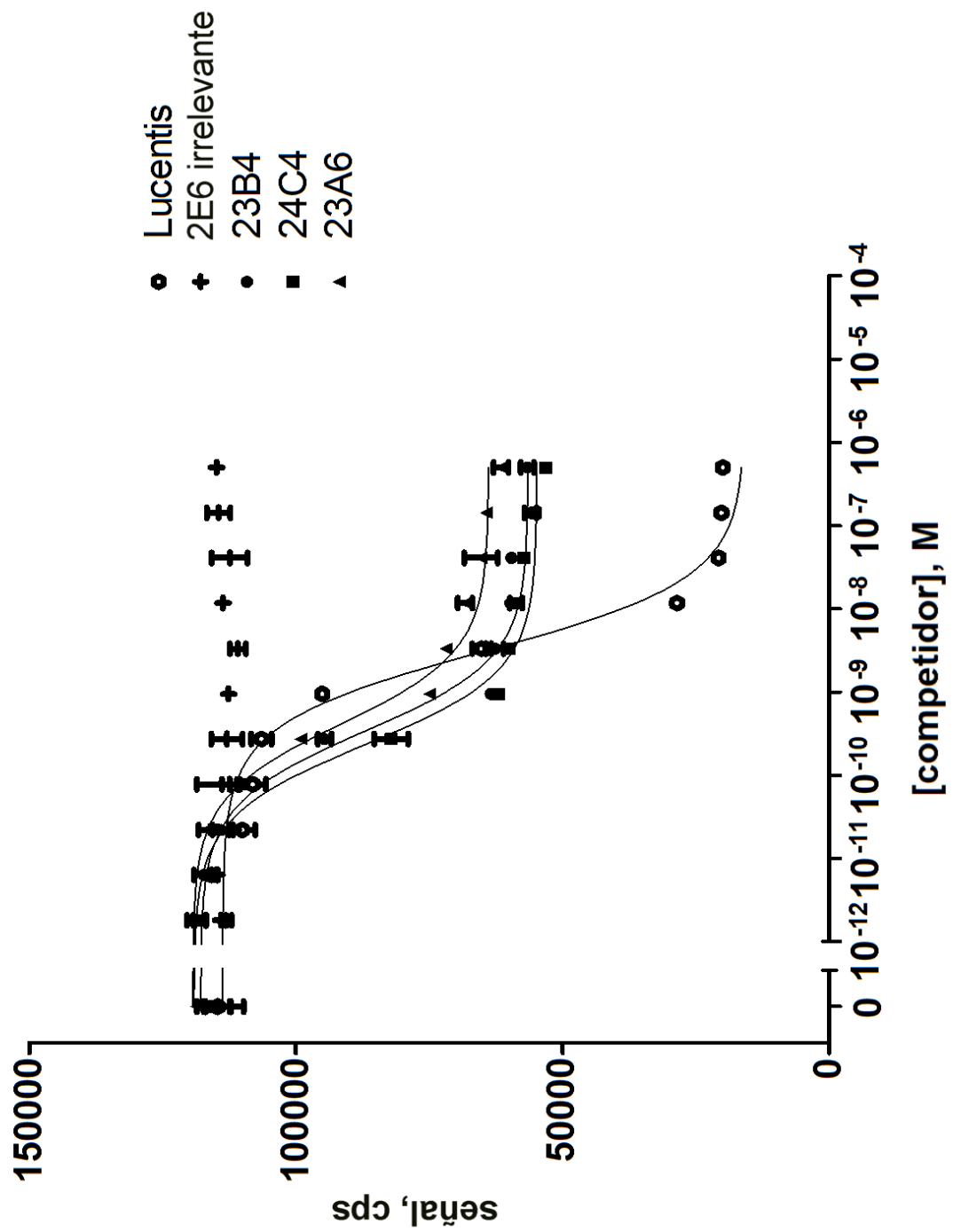


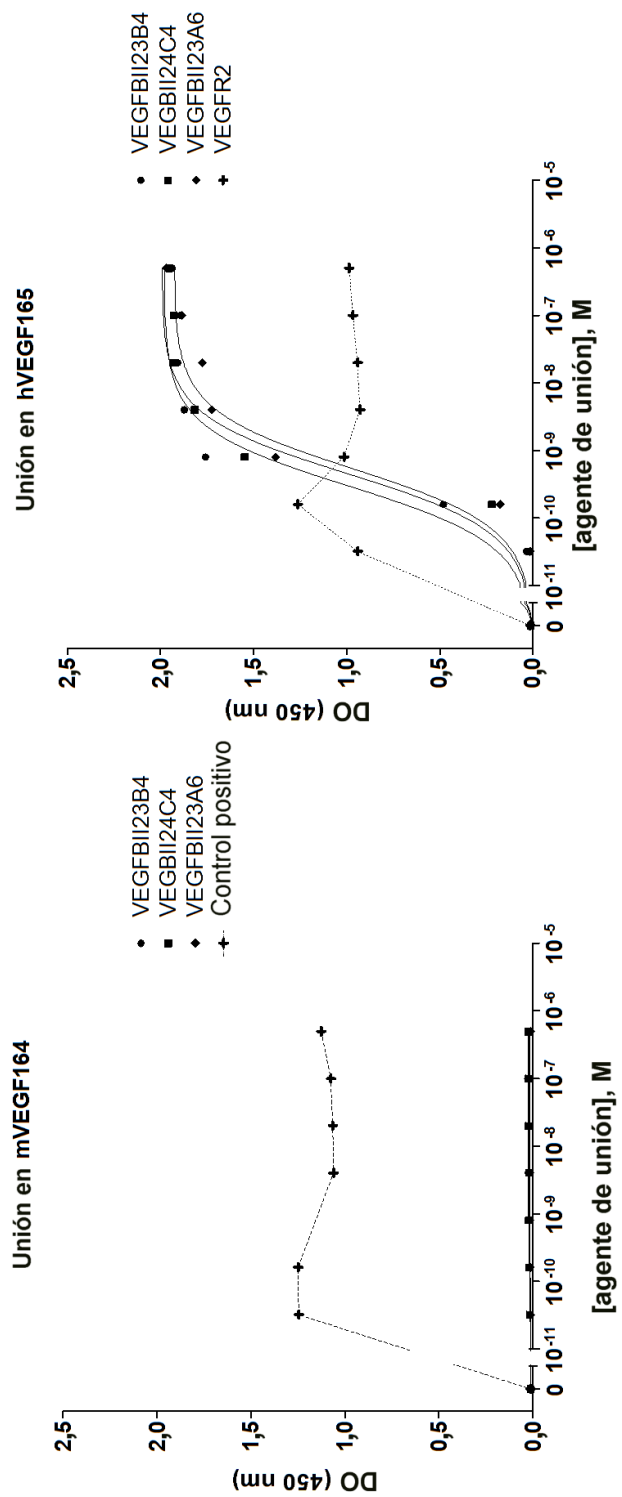
Figura 5

Figura 6

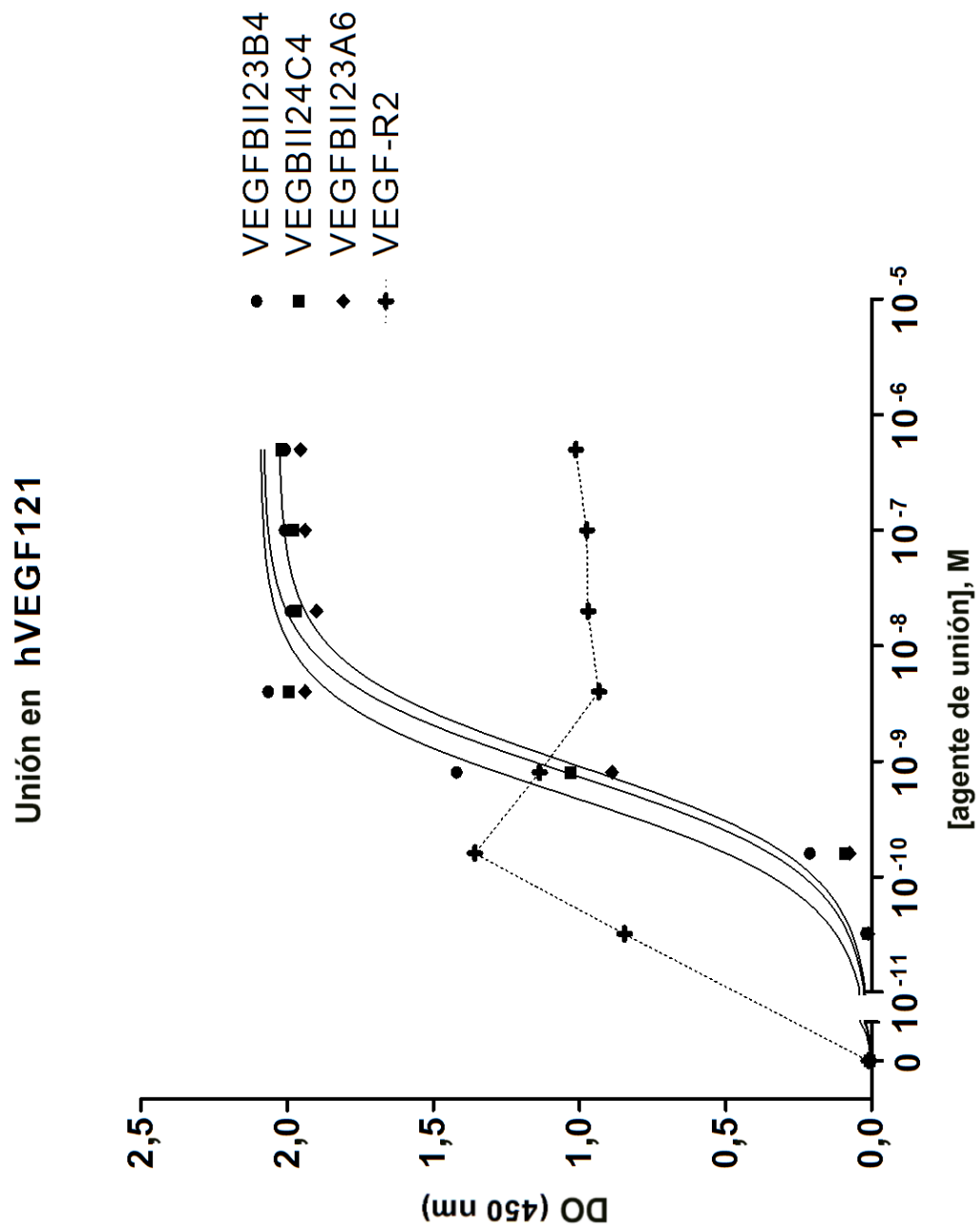


Figura 7

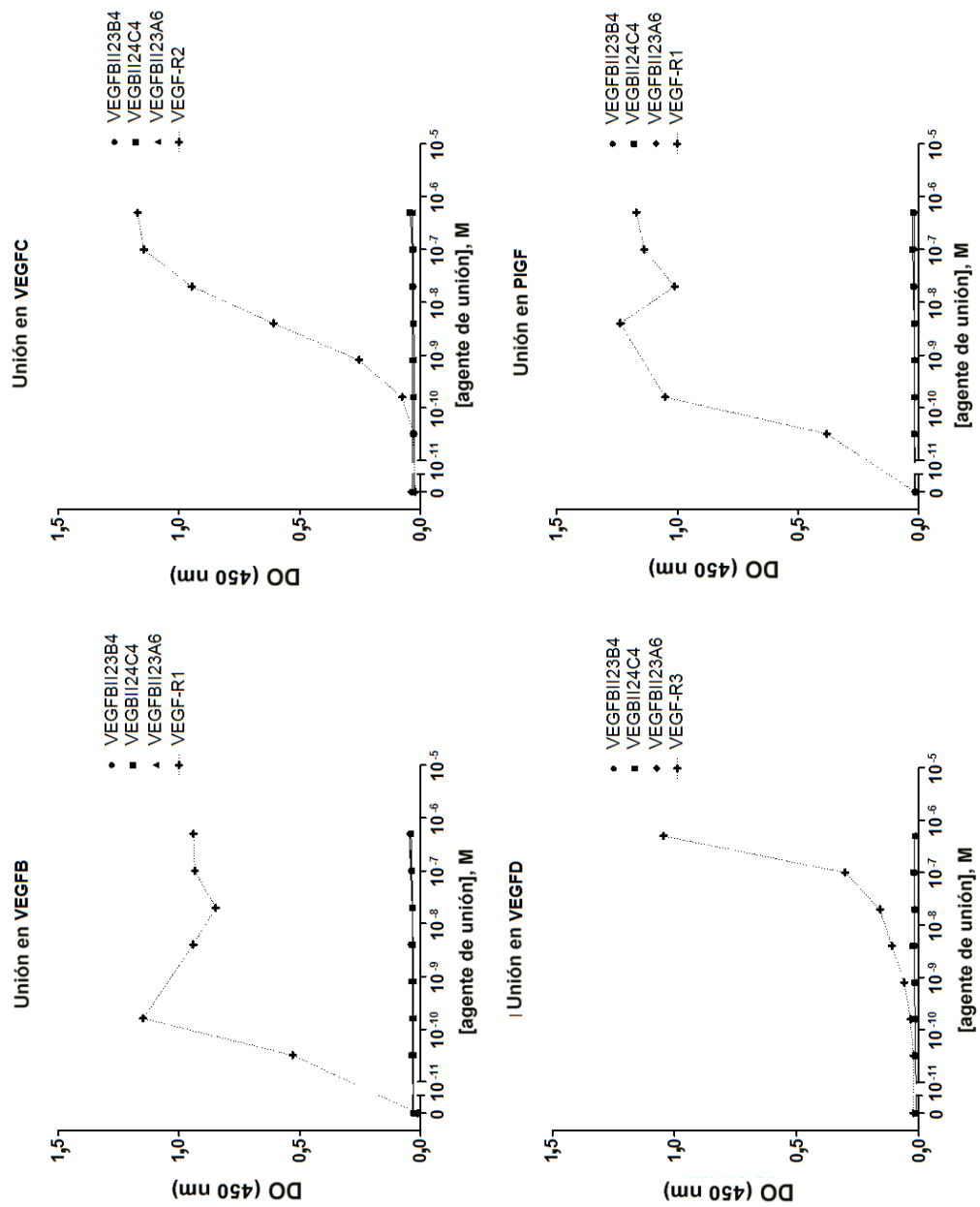


Figura 8

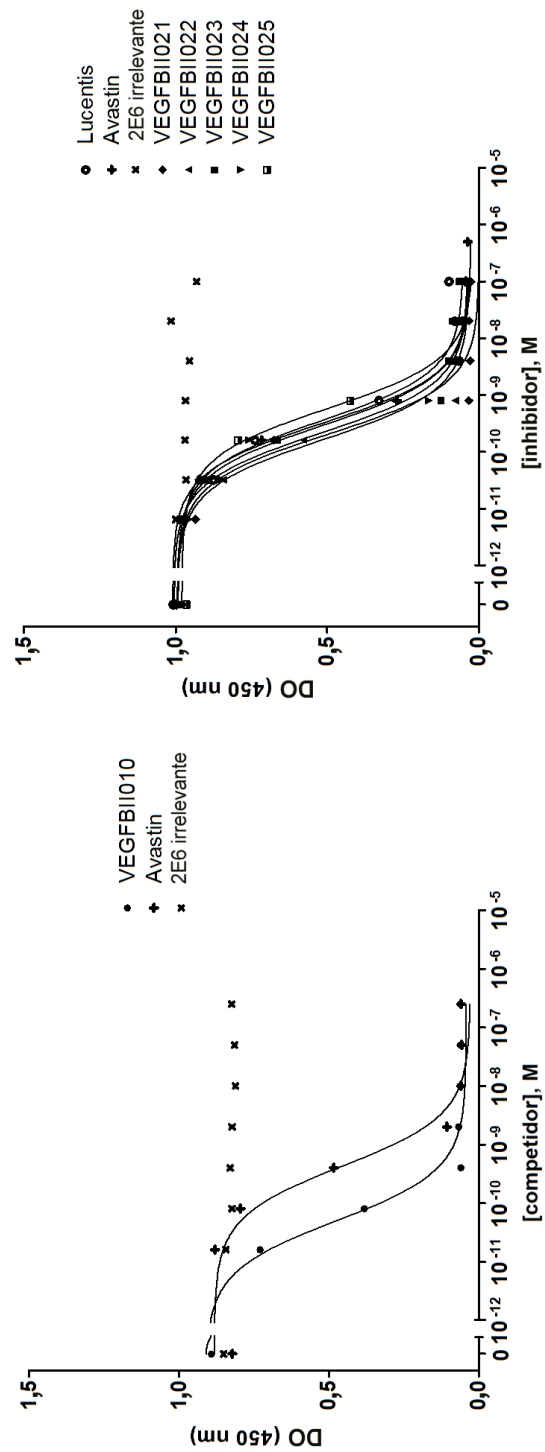


Figura 9

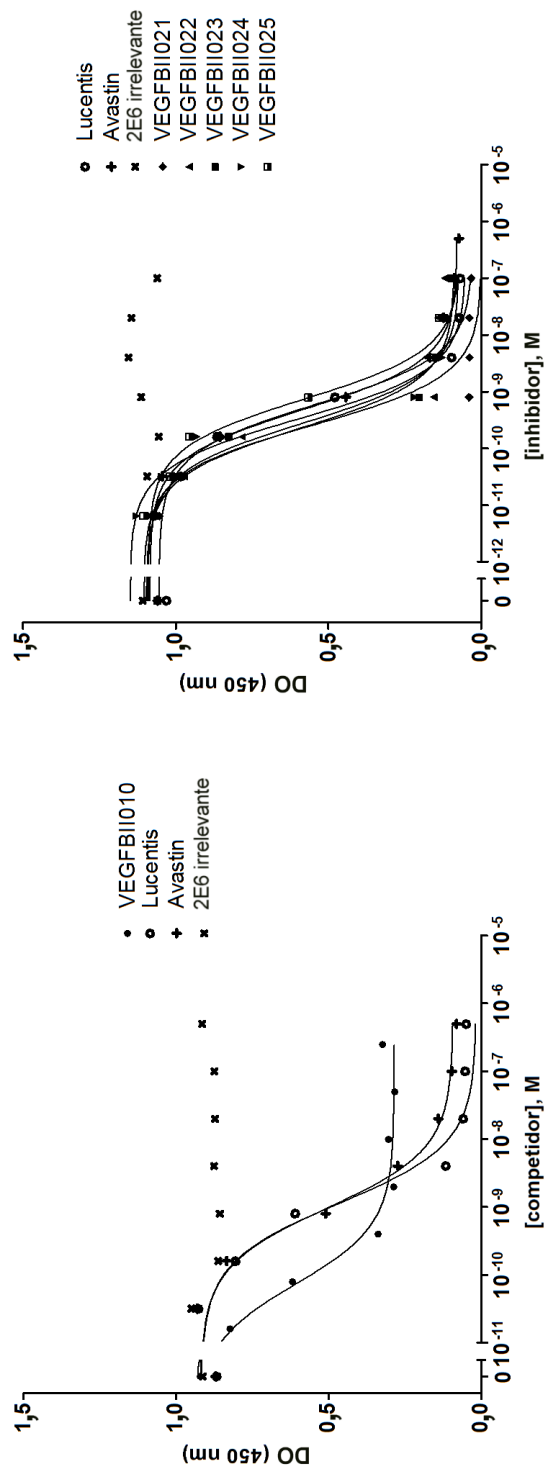


Figura 10

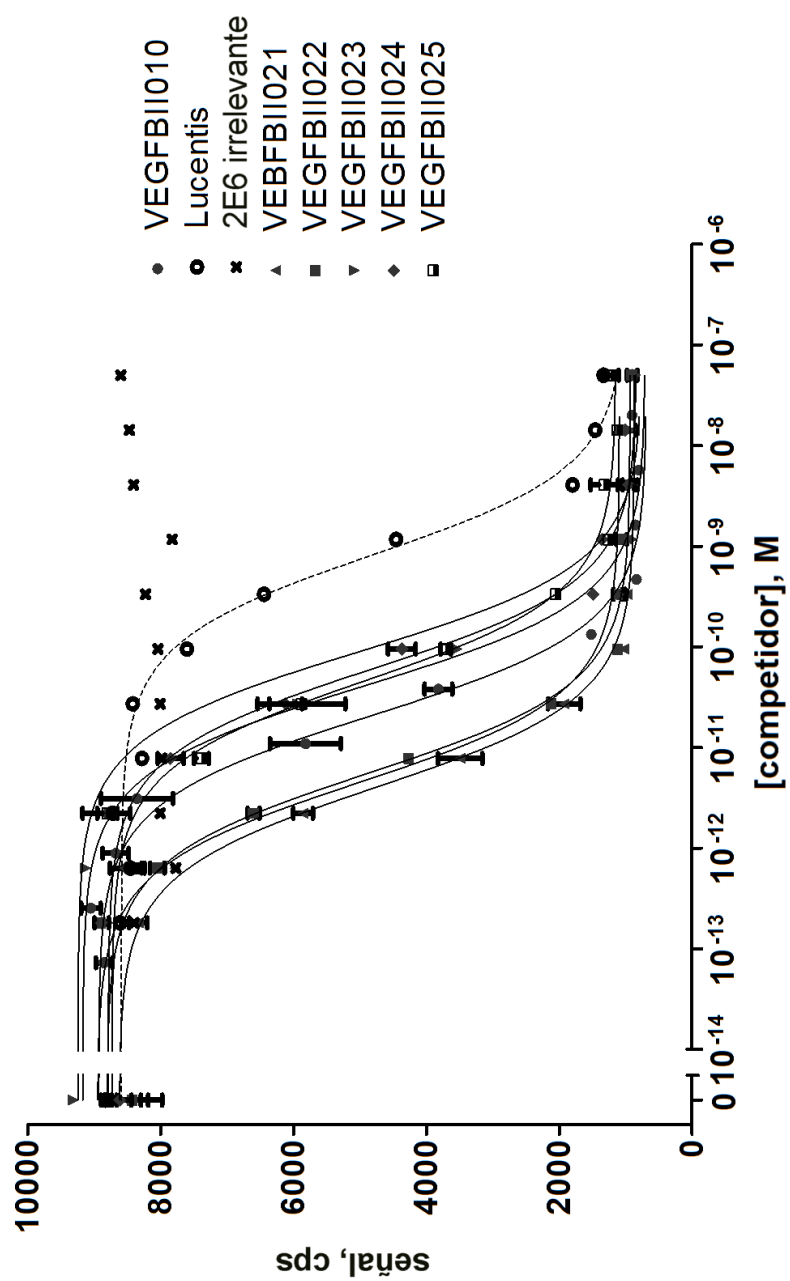


Figura 11

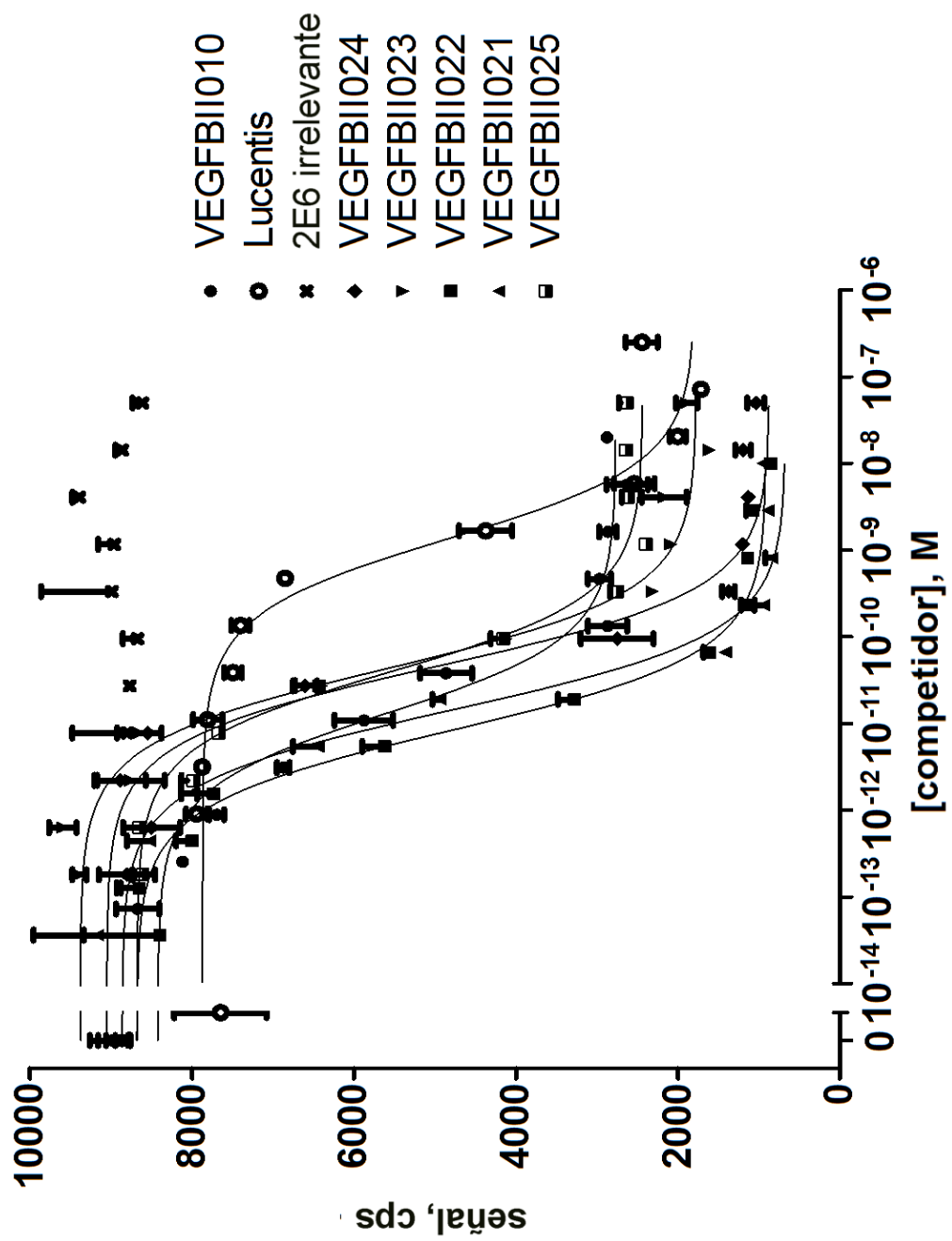


Figura 12

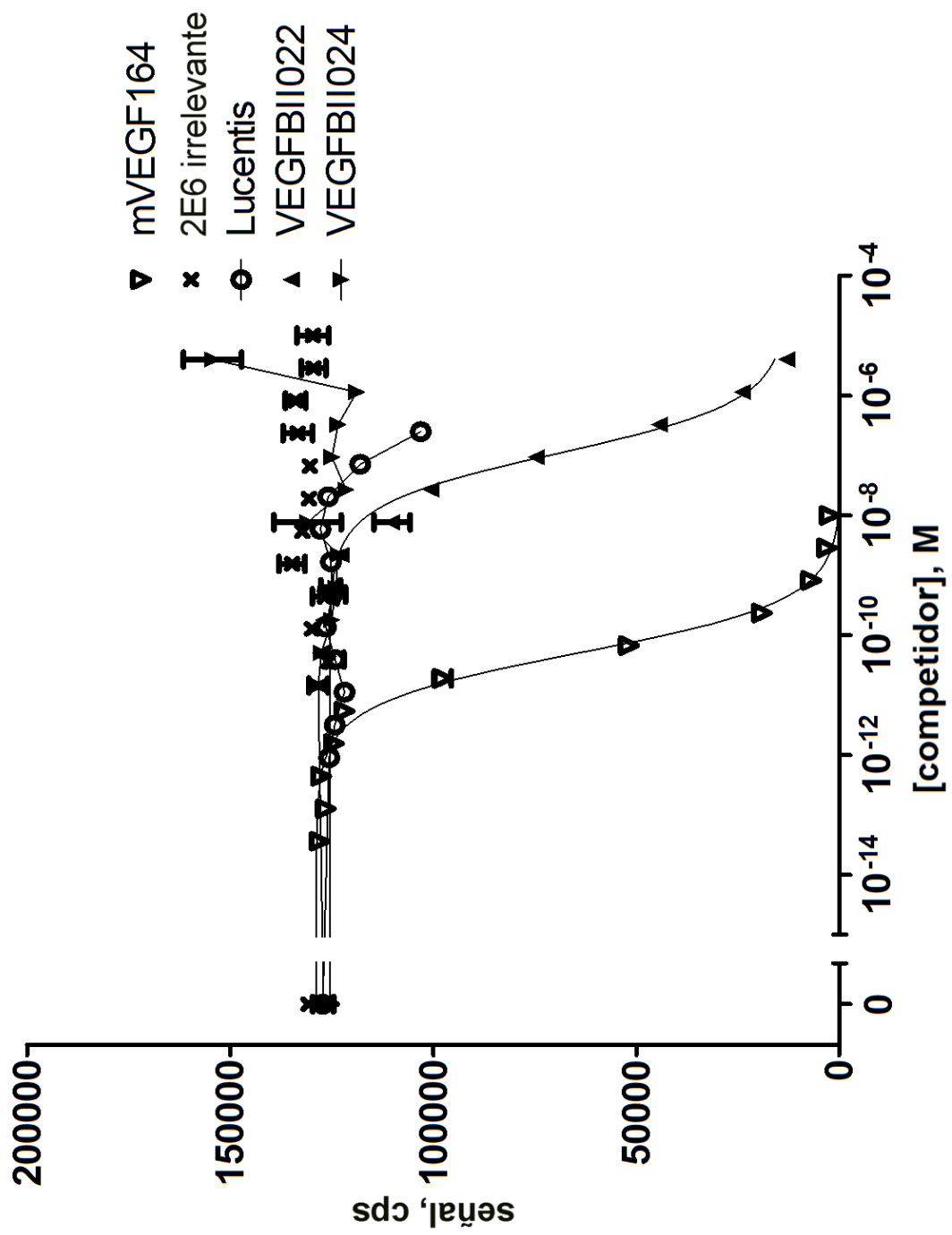


Figura 13

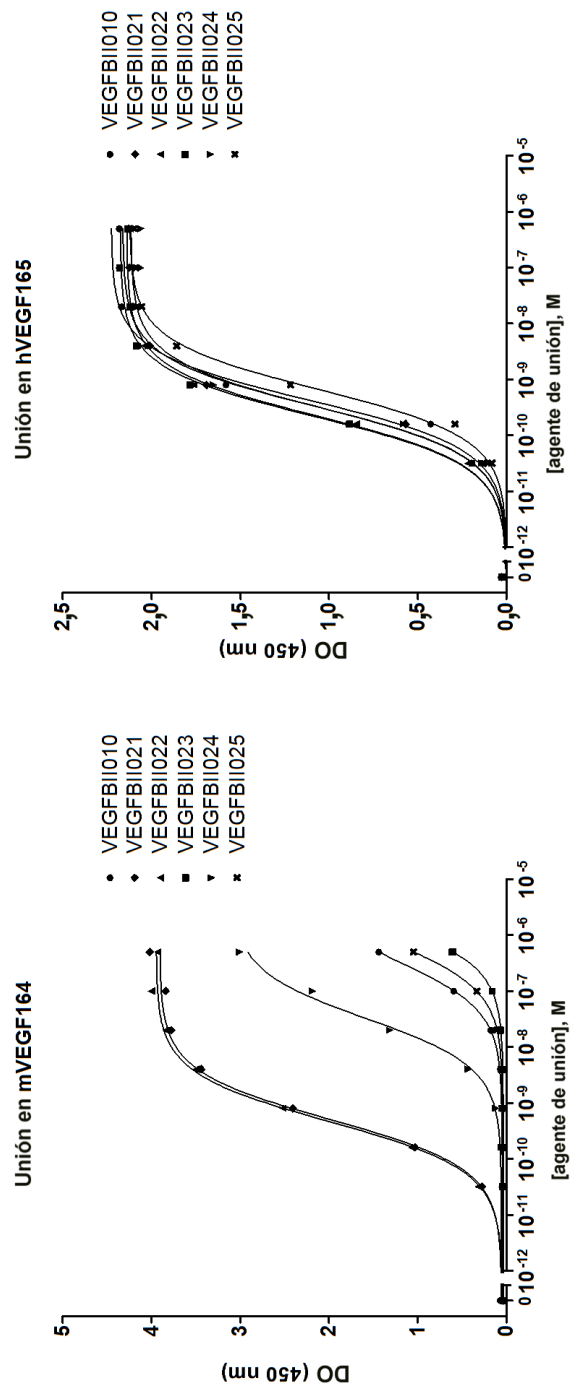


Figura 14-1

A

Unión en VEGFB

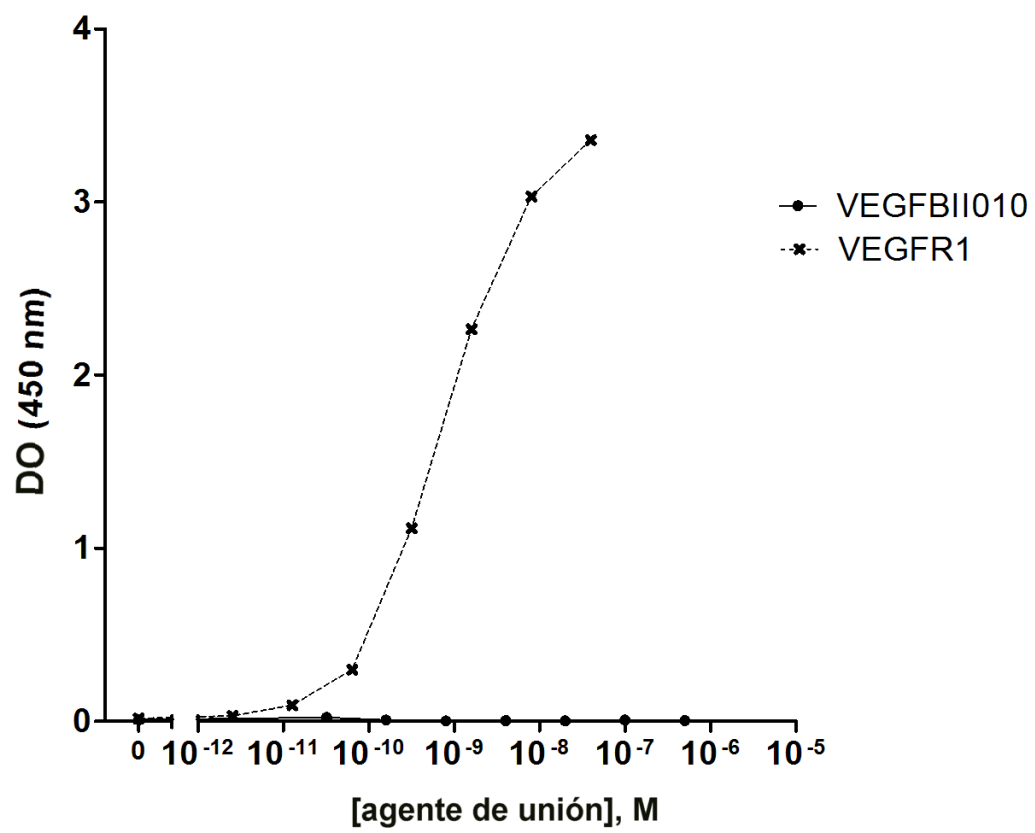


Figura 14-2

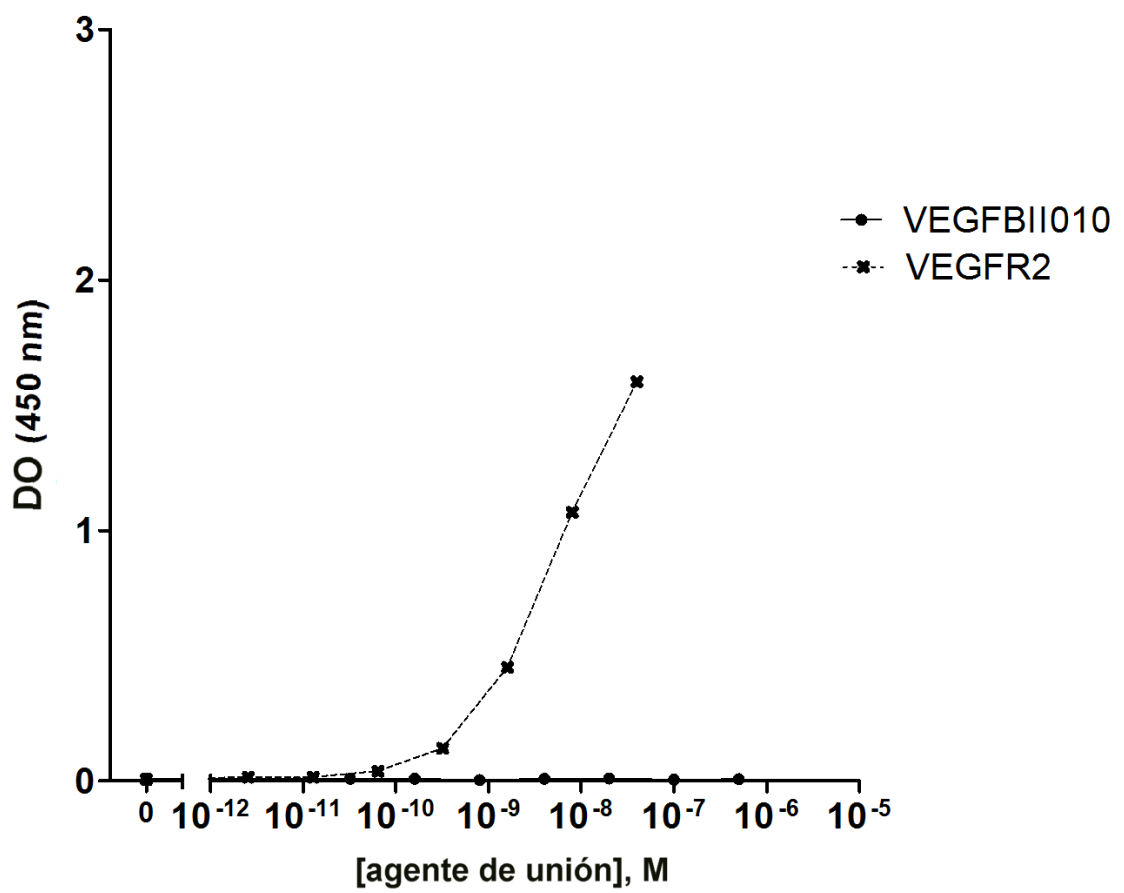
B**Unión en VEGFC**

Figura 14-3

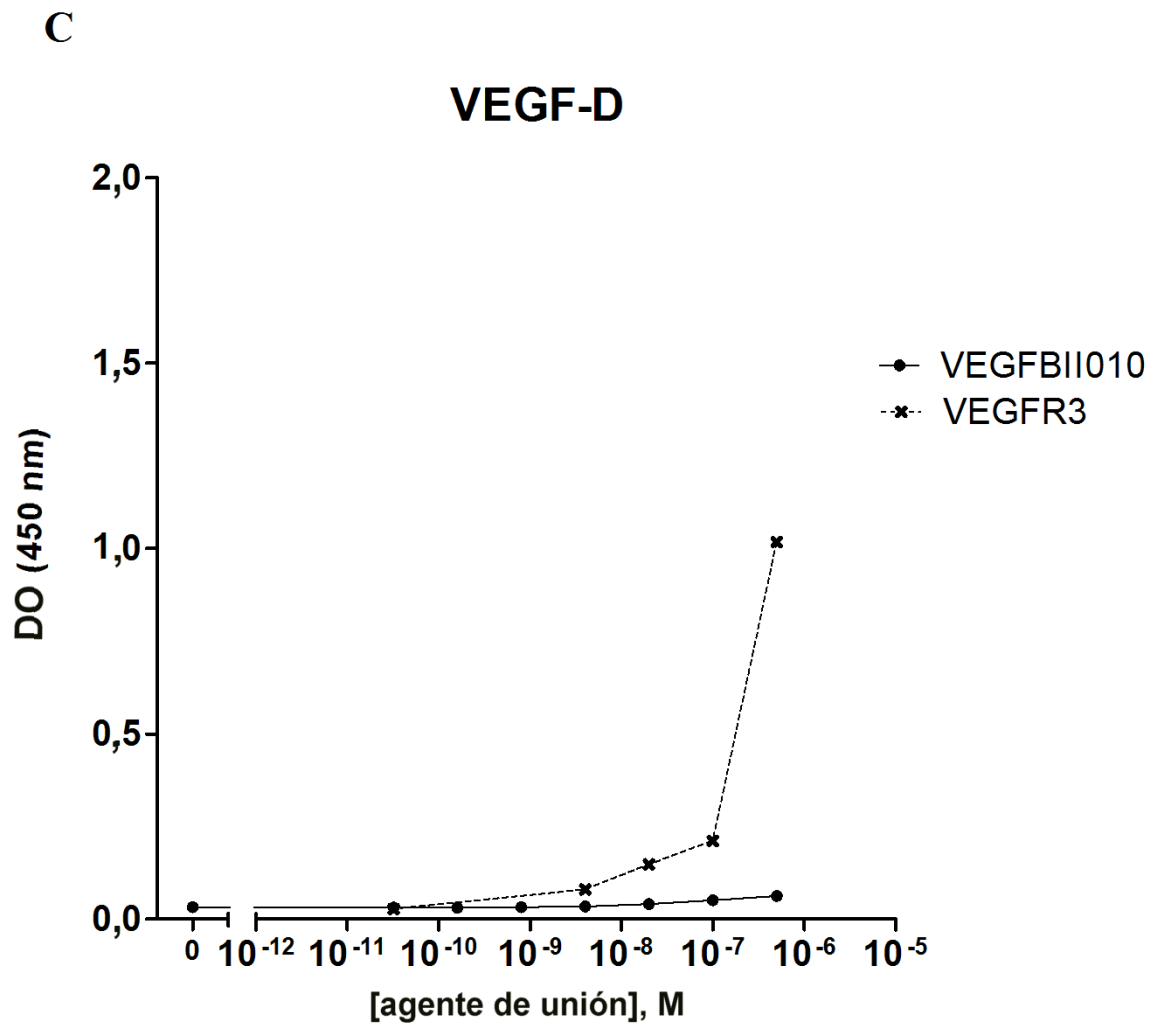


Figura 14-4

D

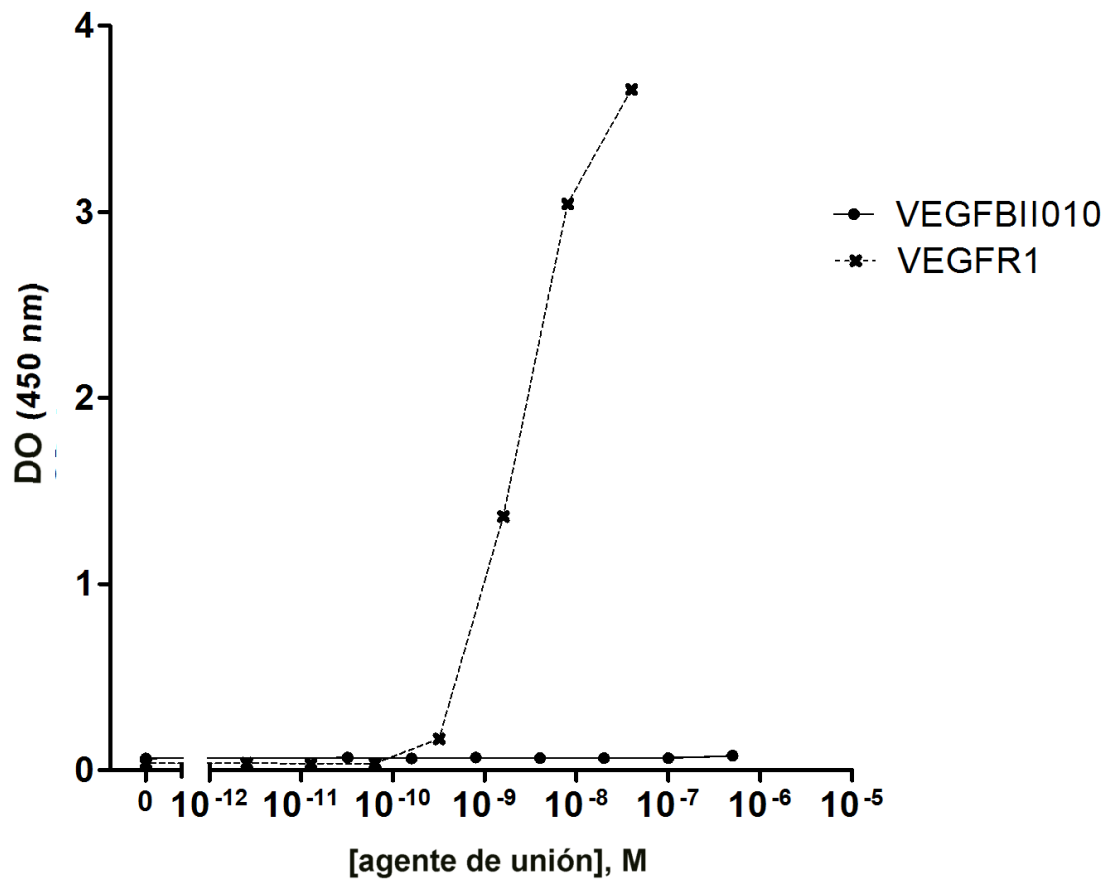
Unión en PIGF

Figura 14-5

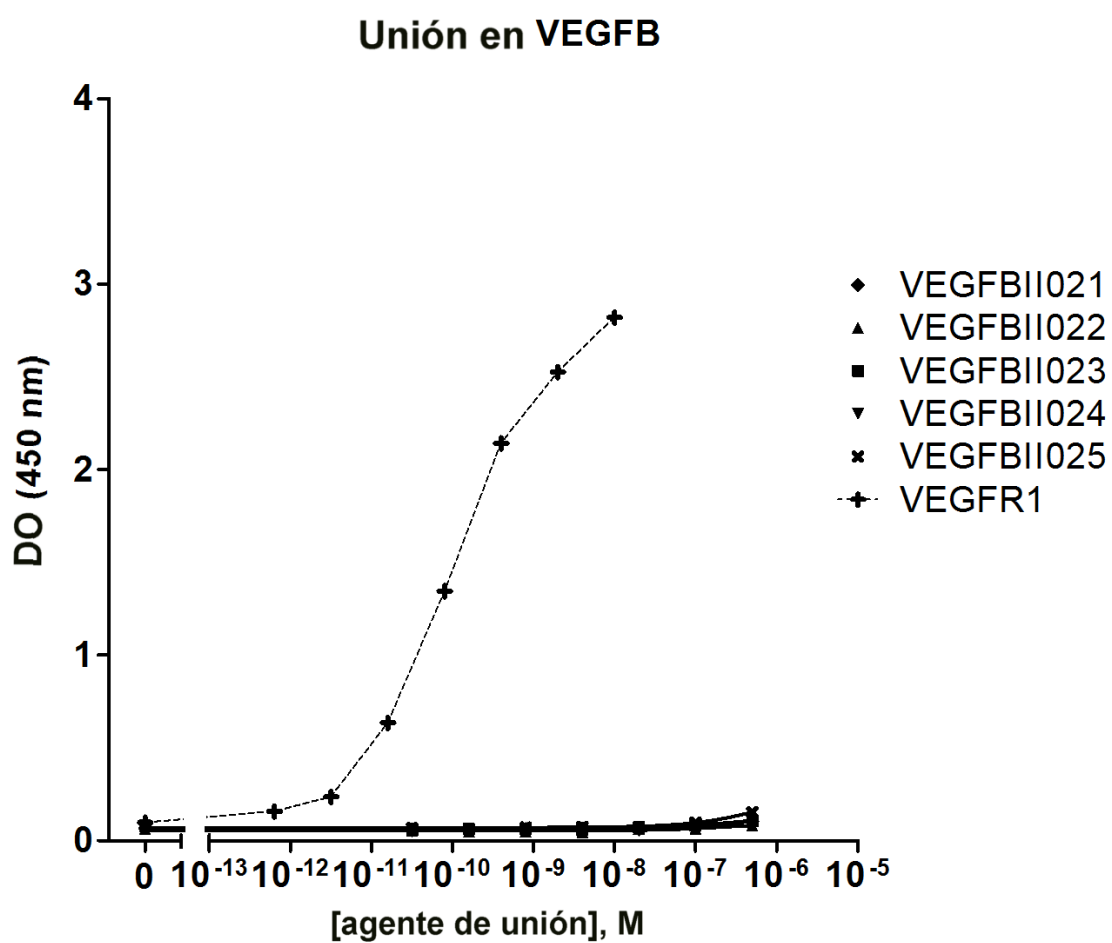
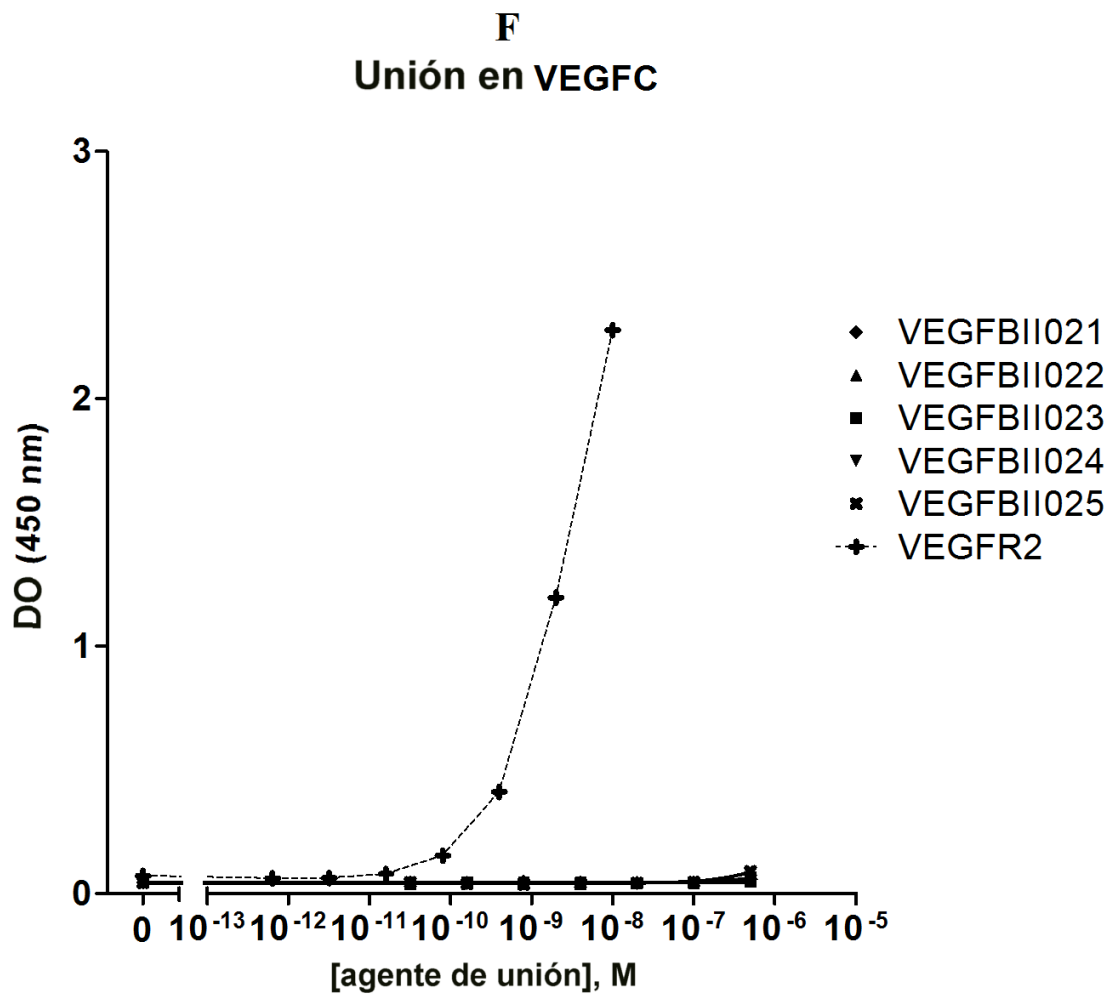
E

Figura 14-6



F

Figura 14-7

G

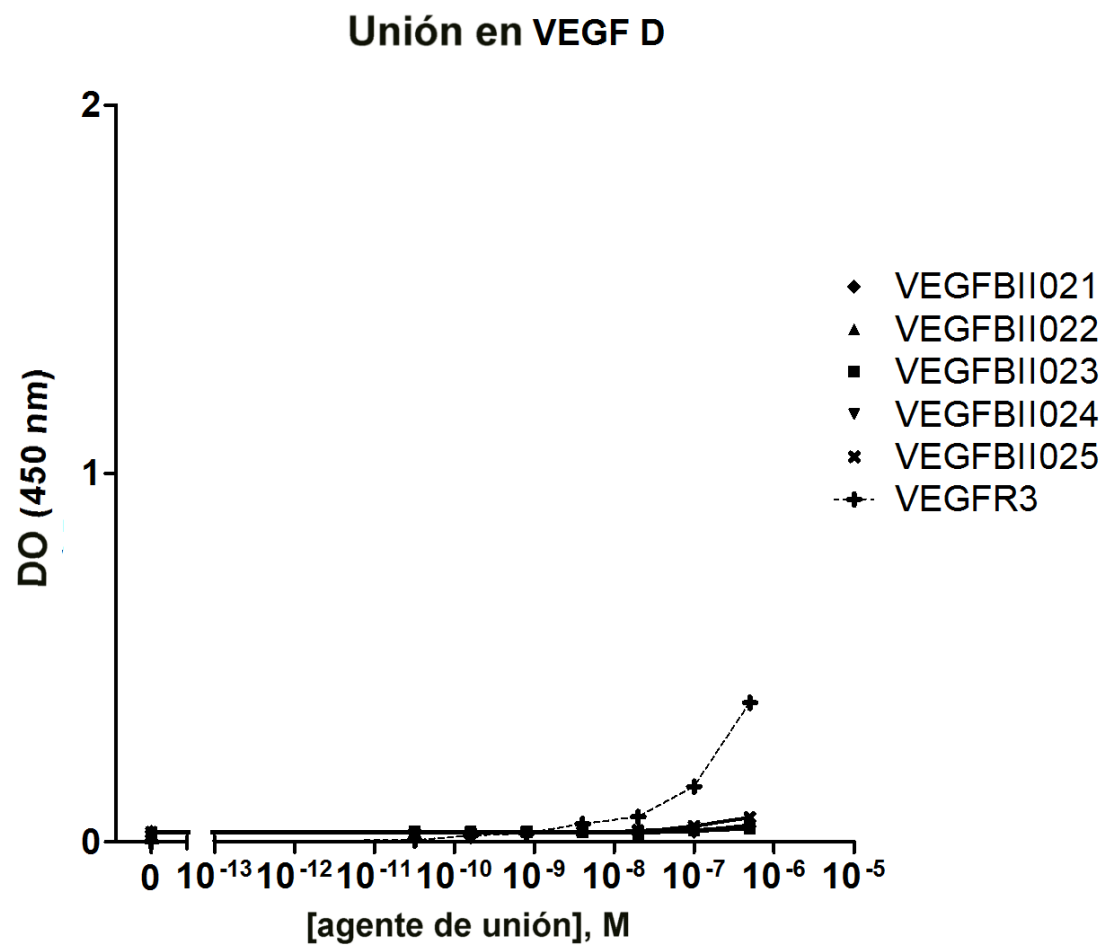


Figura 14-8

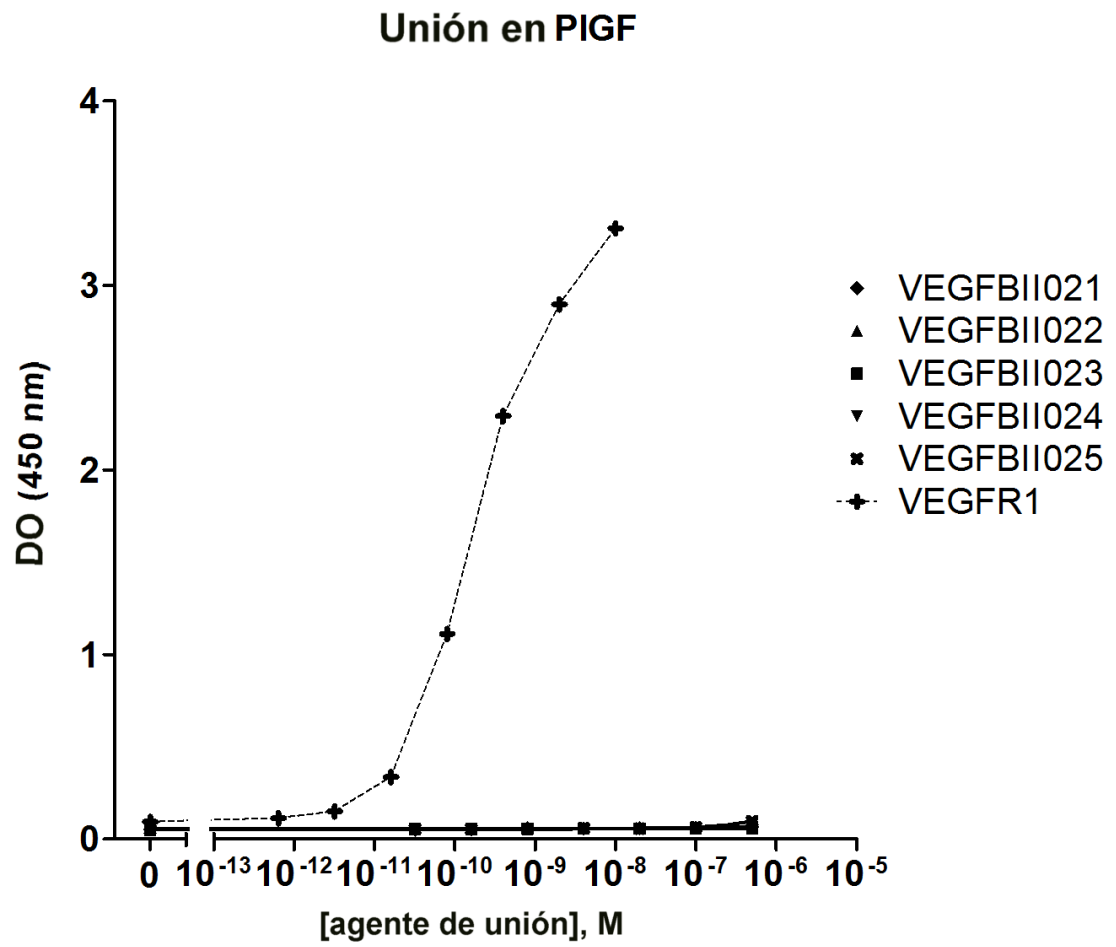
H

Figura 15

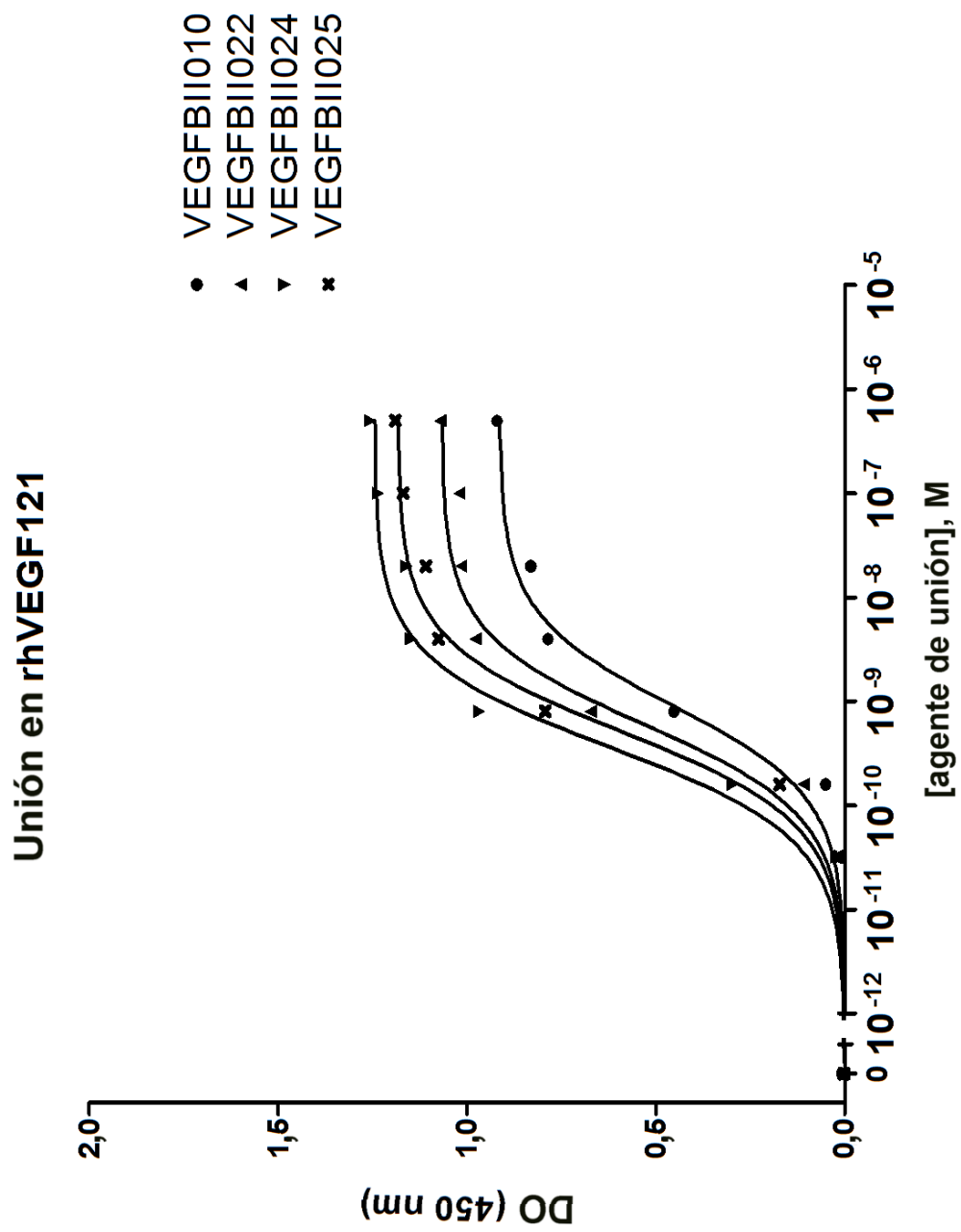


Figura 16

	10	20	30	40
Kabat nº	:		
VH3-23/JH5	:	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLS	CAASGFTFSSYAMSWVRQA	
VEGFBII23B04	:I.D.....EV.R.....S.G.F...		

	50	60	70	80
Kabat nº	:a.....		
VH3-23/JH5	:	PGKGLEWVSAISGGGSTYYADSVKGRFTISR	DNSKNTLYL	
VEGFBII23B04	:	Q..ER.F.V...K..YK.DSV.LE.....K.A...V..		

	90	100	110
Kabat nº	:	..abc..... abcdefghi..... ...	
VH3-23/JH5	:	QMNSLR	AEDTAVYYCAK-----WGQGT
VEGFBII23B04	:	I...KP.....SSRAYGSSRLRLADTYEY.....Q.....	

Figura 17

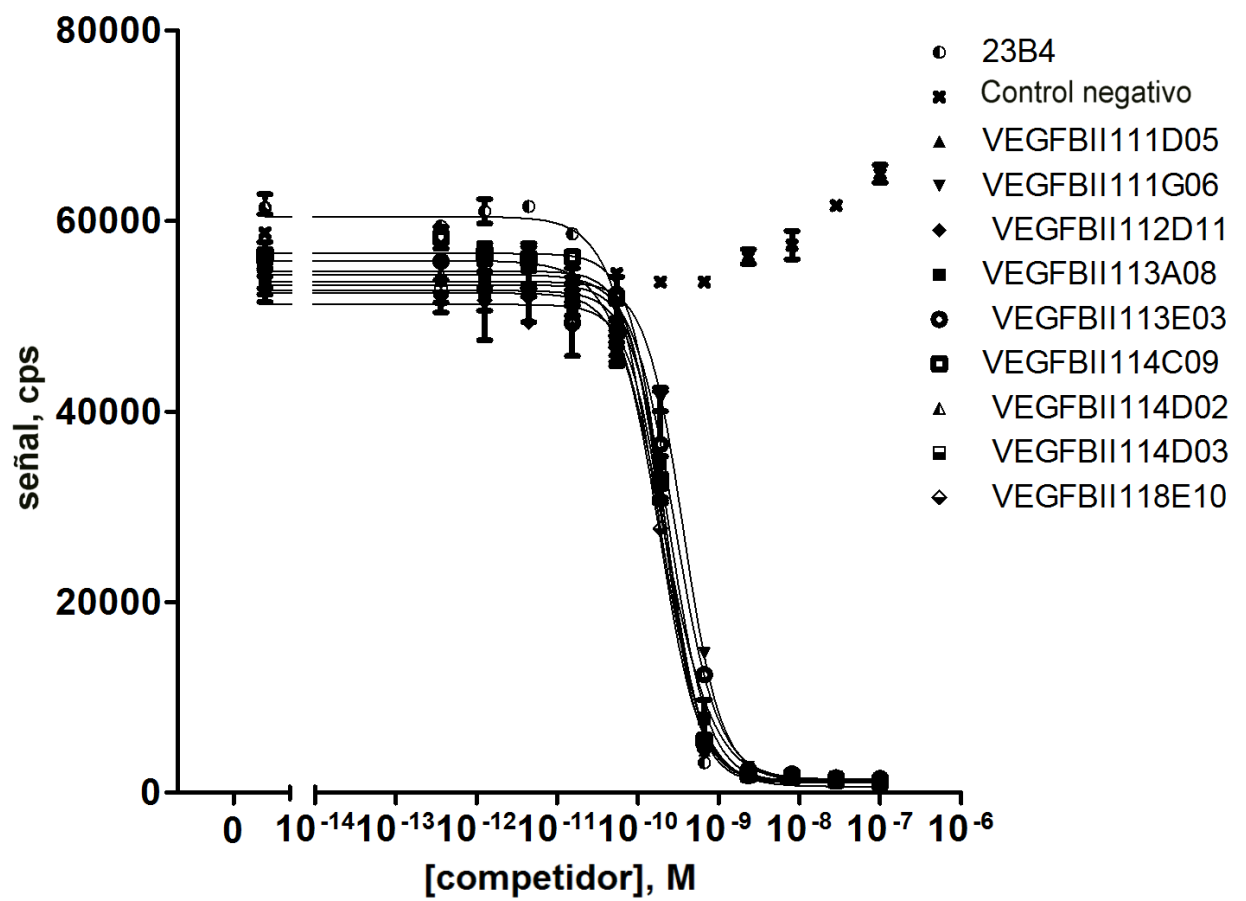


Figura 18

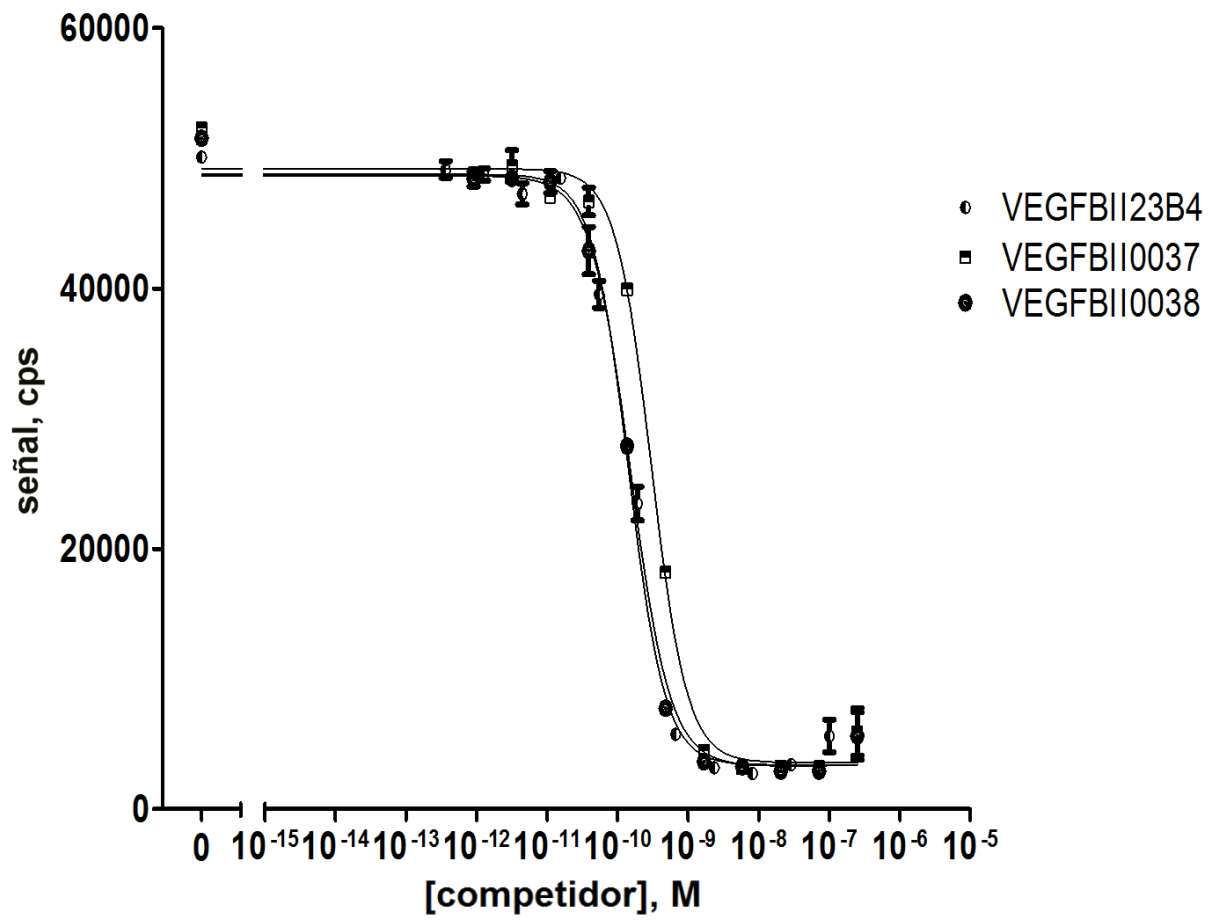
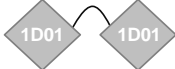







Figura 19

	10	20	30	40
Kabat nº	:		
VH3-23/JH5	:	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSSYAMSWVRQA		
PVEGFBIPMP5B5	:V..IR./MSM.---.Y...		
	50	60	70	80
Kabat nº	:a.....		
VH3-23/JH5	:	PGKGLEWVSAISGGGTY ^Y ADSVKGRFTISRDNKNTLYL		
PVEGFBIPMP5B5	:	...HR.L.AR..-..T.A.V.....V..		
	90	101	110	
Kabat nº	:	..abc.....		
VH3-23/JH5	:	QMNSLRAEDTAVYYCAK-----WGQGT ^L VTVSS		
PVEGFBIPMP5B5	:KA.....NTFSSRPNP..A.Q.....		

Figura 20

ID VHH	Formato	Descripción
ANGBII00001		1D01-9gs-1D01
ANGBII00002		1D01-40gs-1D01
ANGBII00003		11B07-9gs-11B07
ANGBII00004		00027-9gs-00027
ANGBII00005		00027-40gs-00027
ANGBII00006		00908-9gs-00908

Leyenda:







	Descripción
	1D01
	11B07
	00027
	00908
	Enlazador 9 <i>GlySer</i>
	Enlazador 40 <i>GlySer</i>

Figura 21-1A

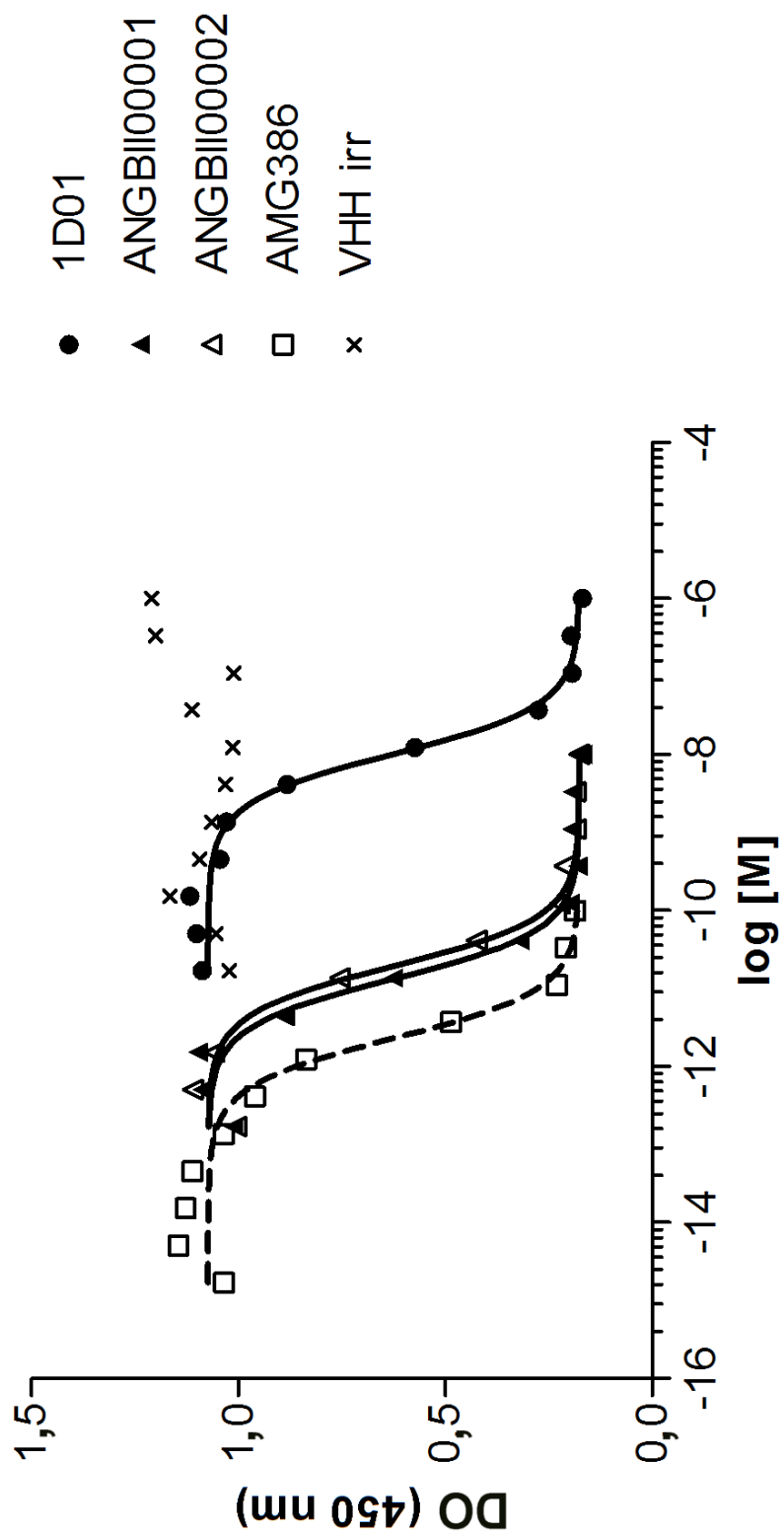


Figura 21-1B

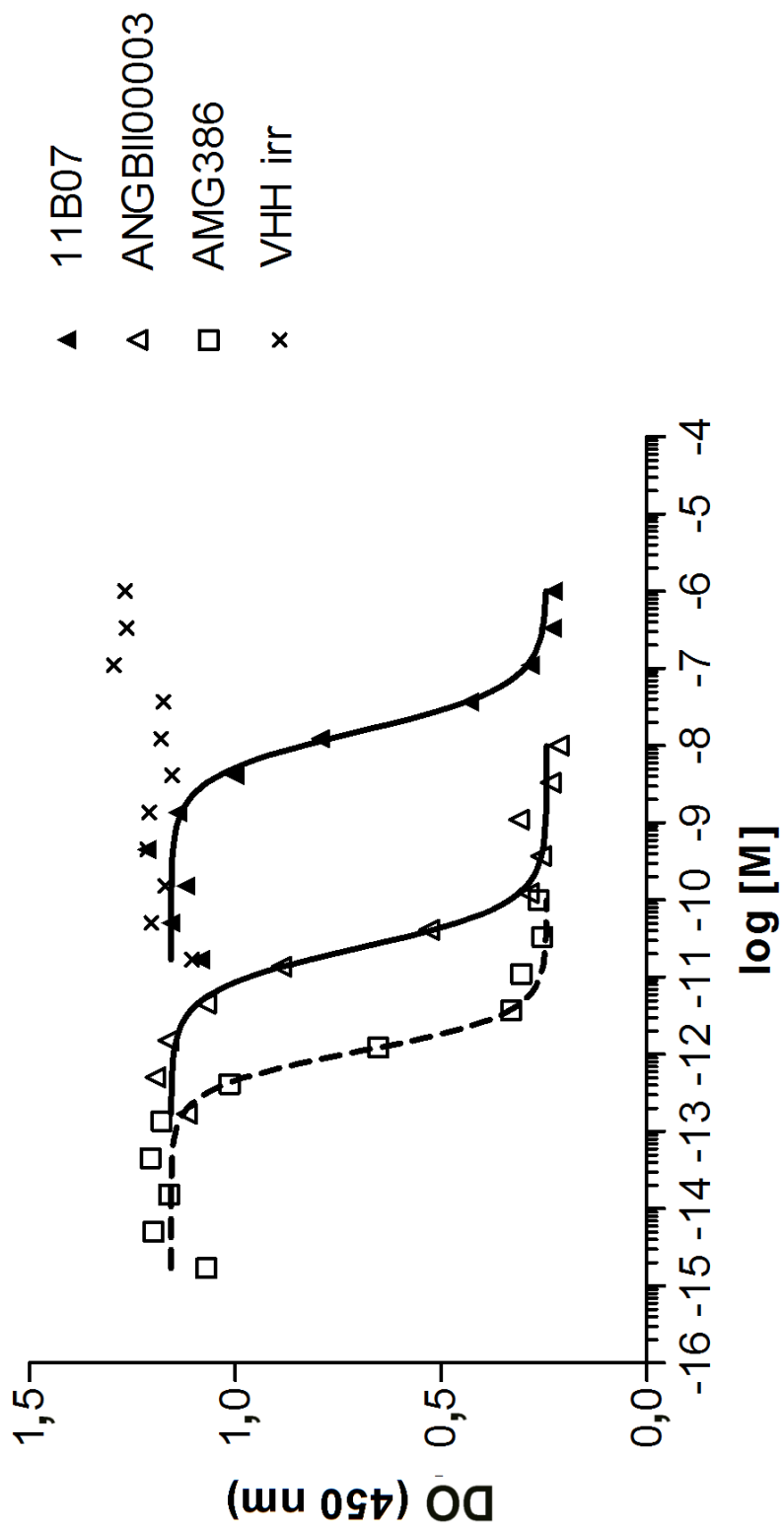


Figura 21-1C

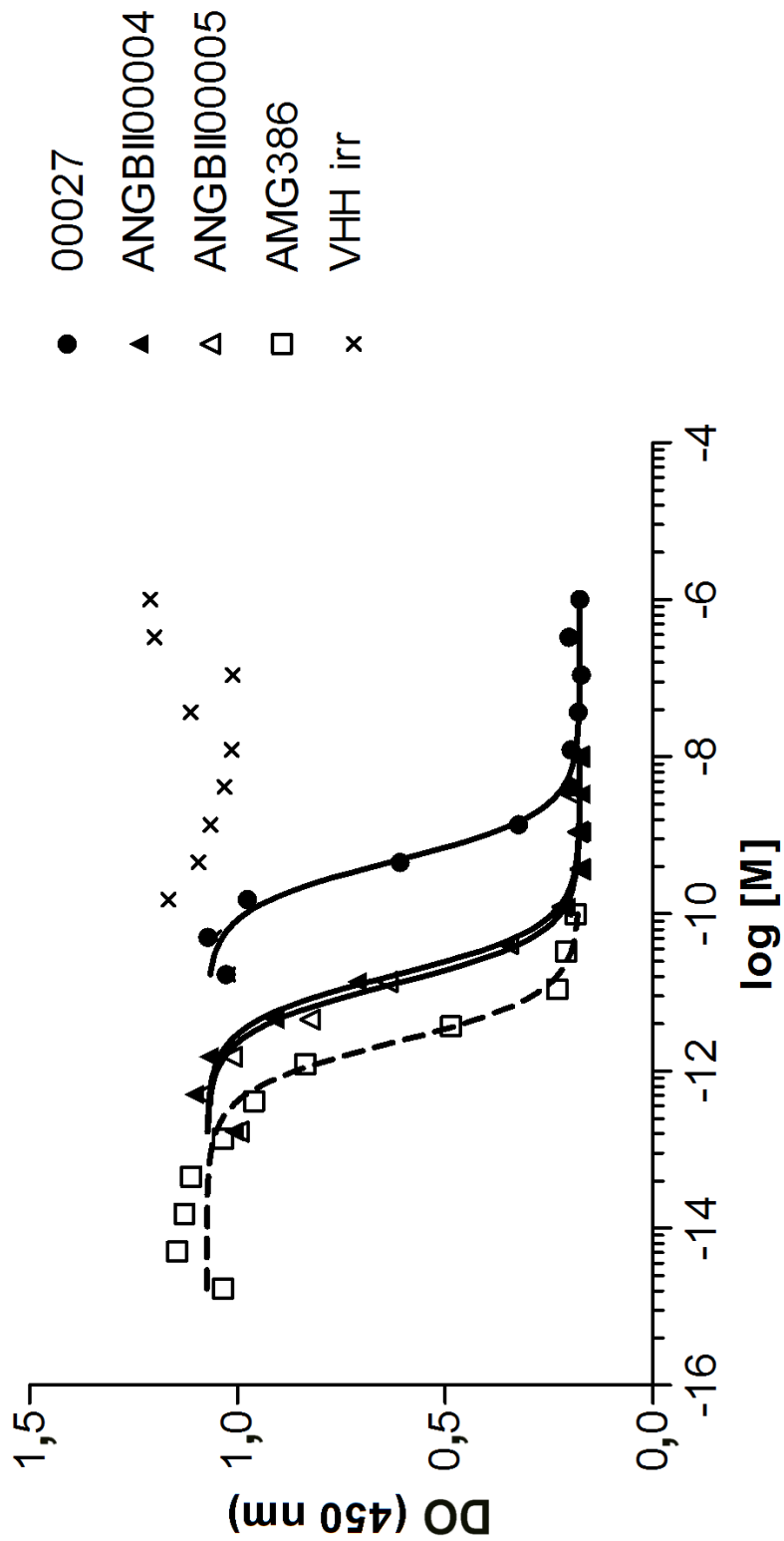


Figura 21-1D

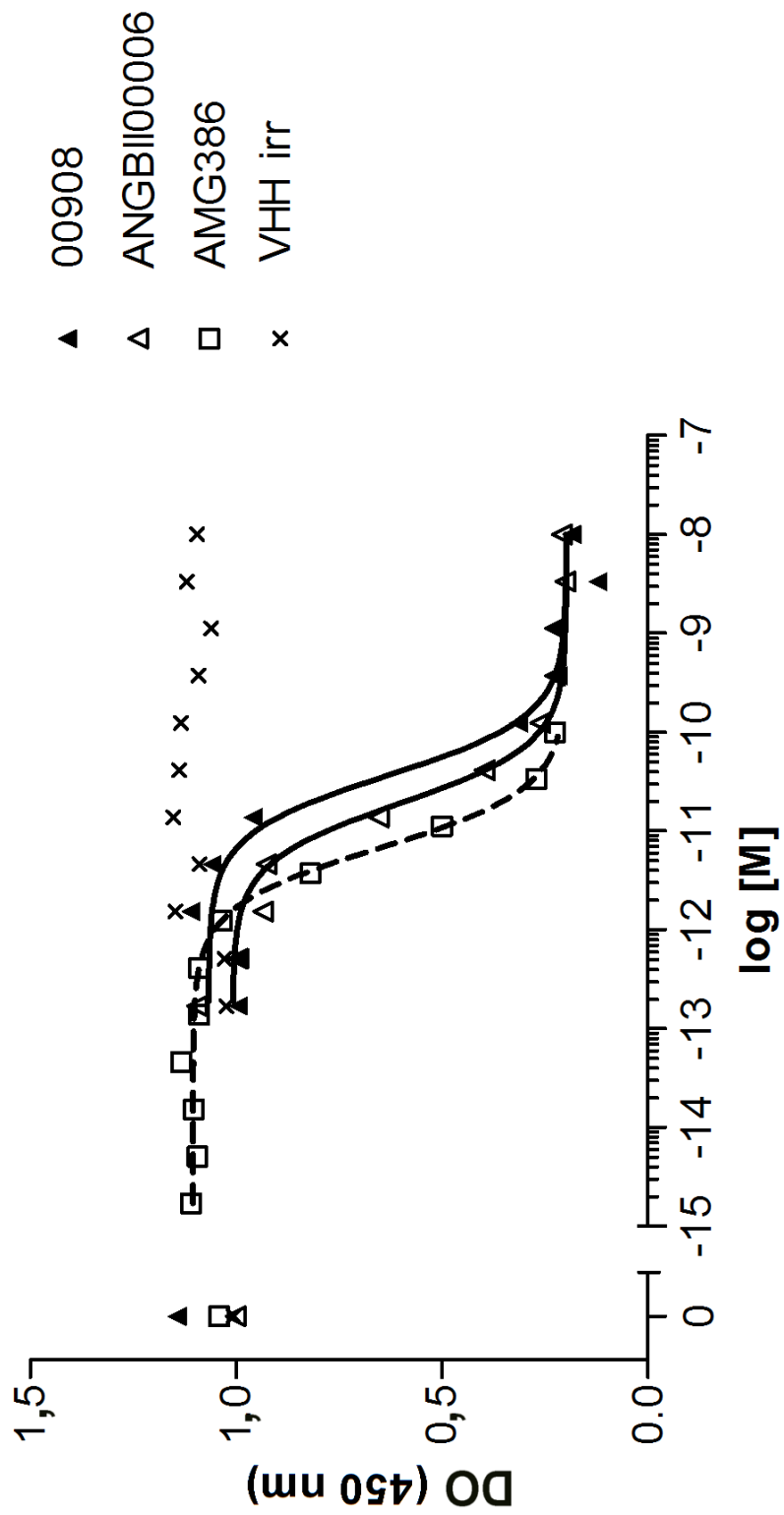
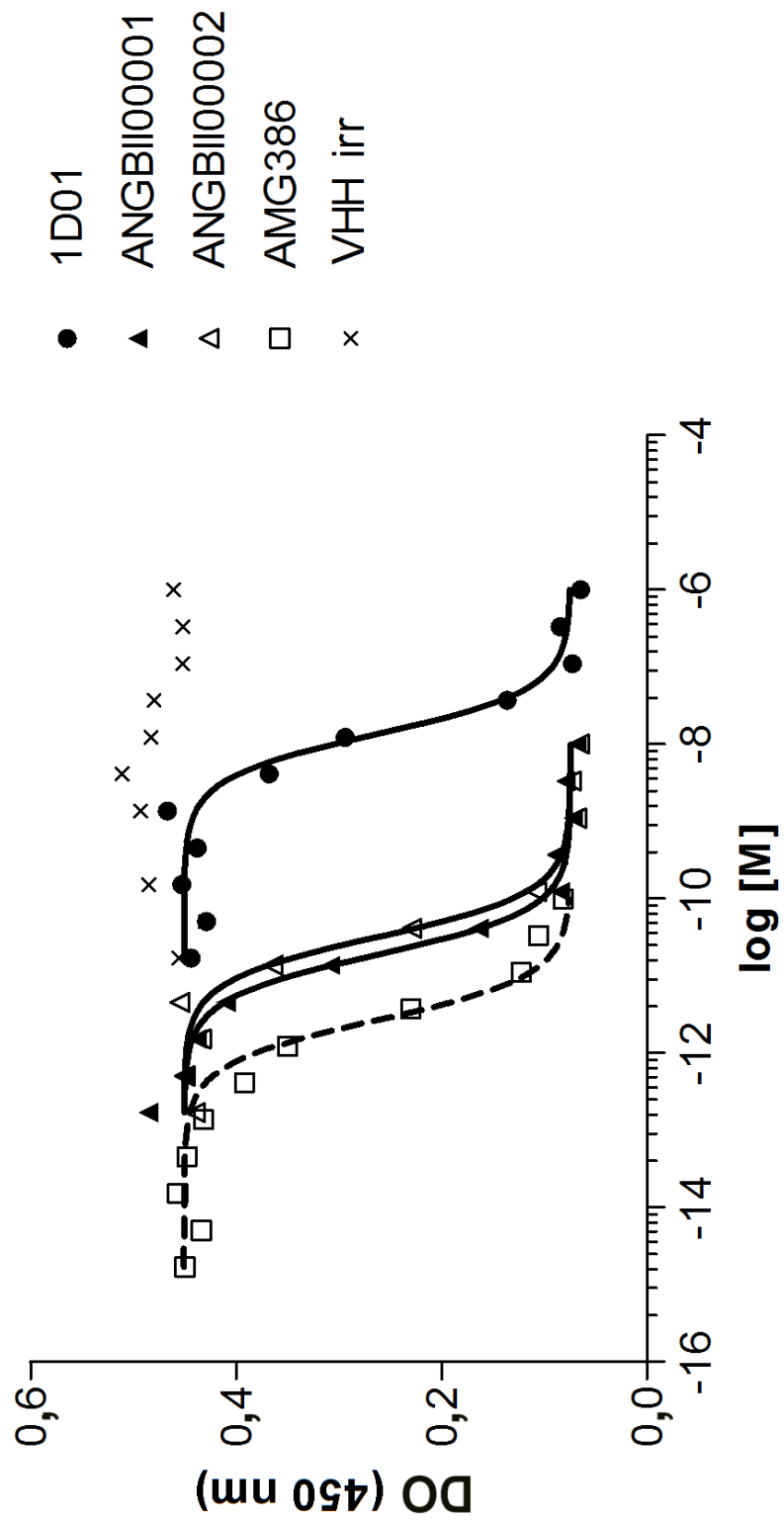


Figura 21-2A



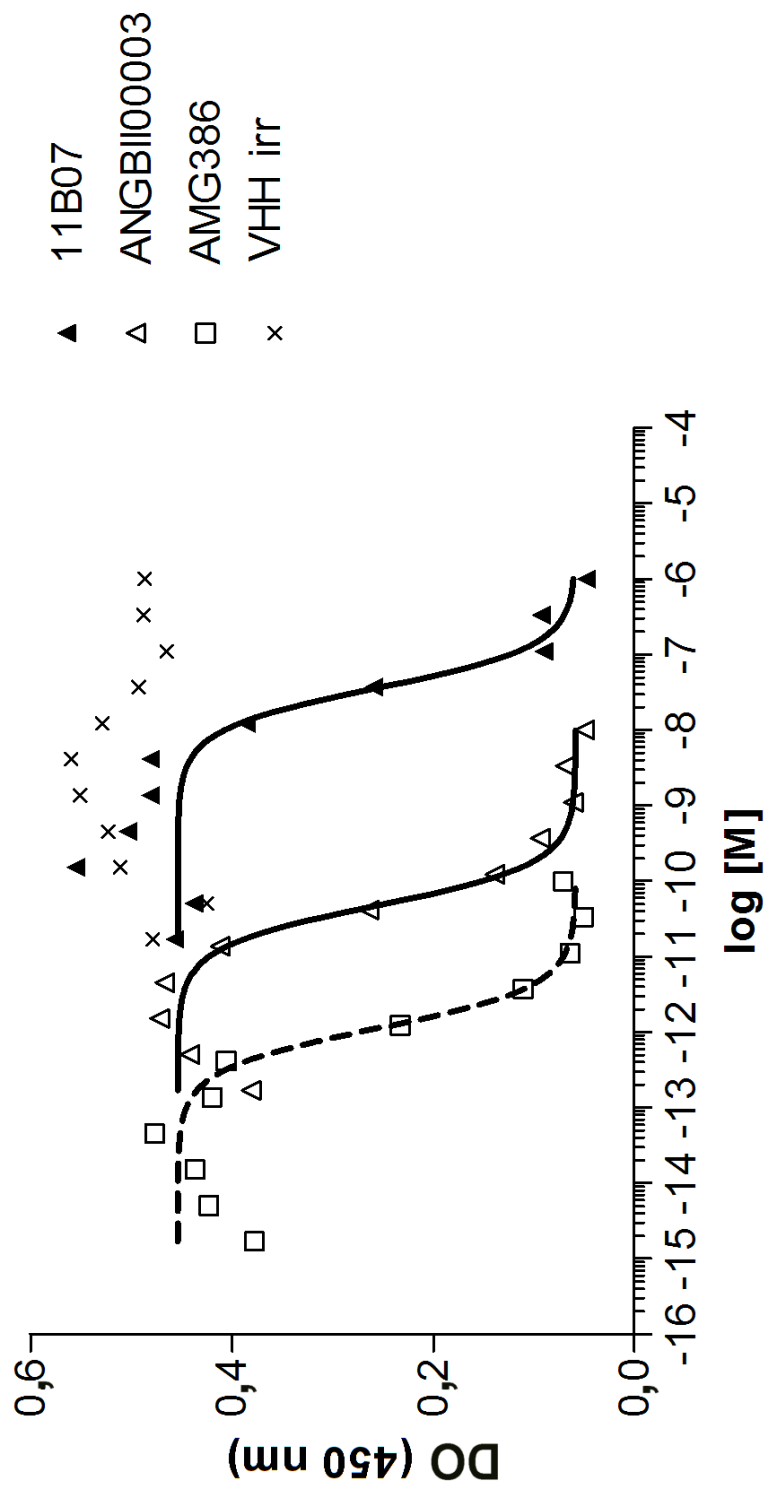


Figura 21-2B

Figura 21-2C

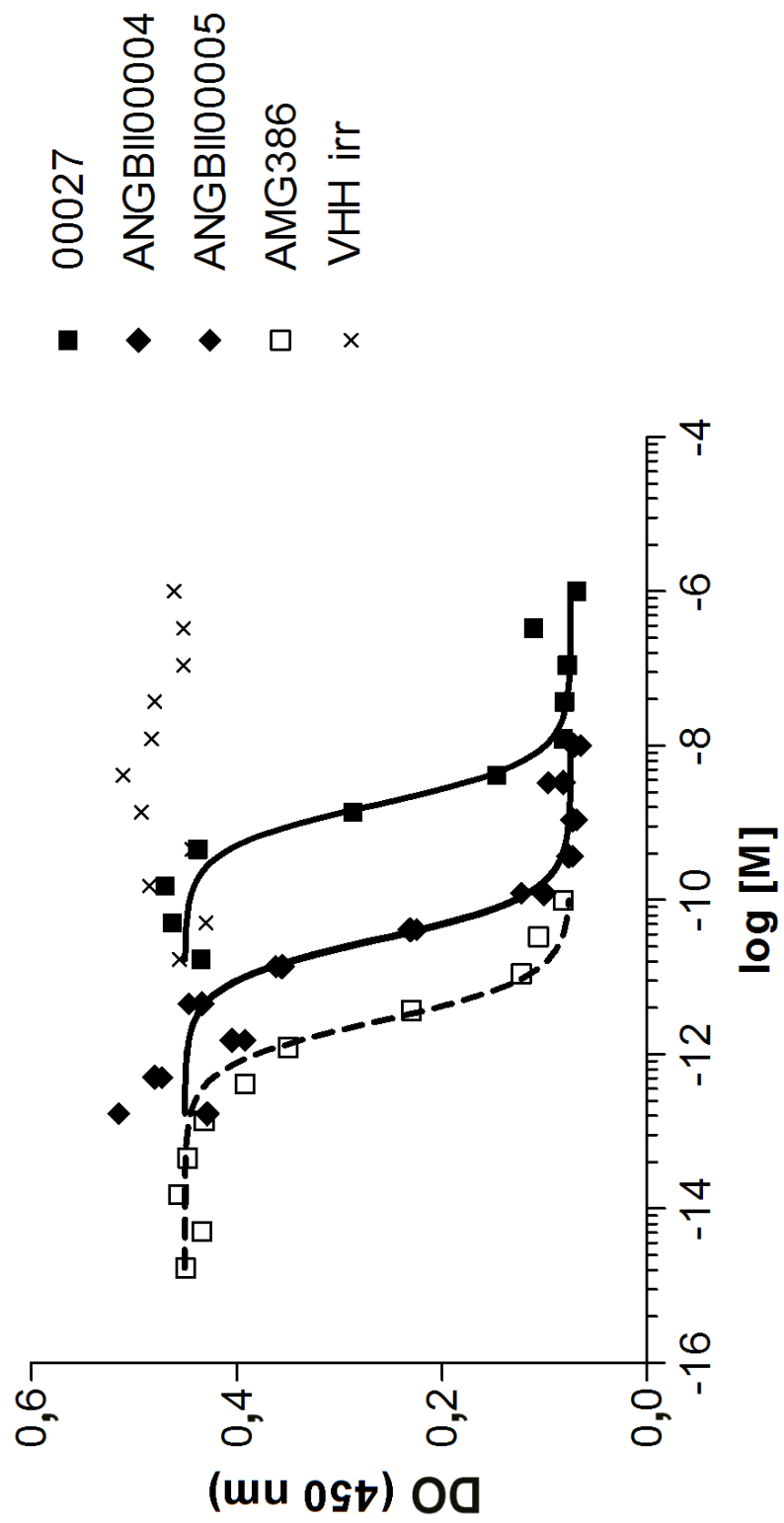


Figura 21-2D

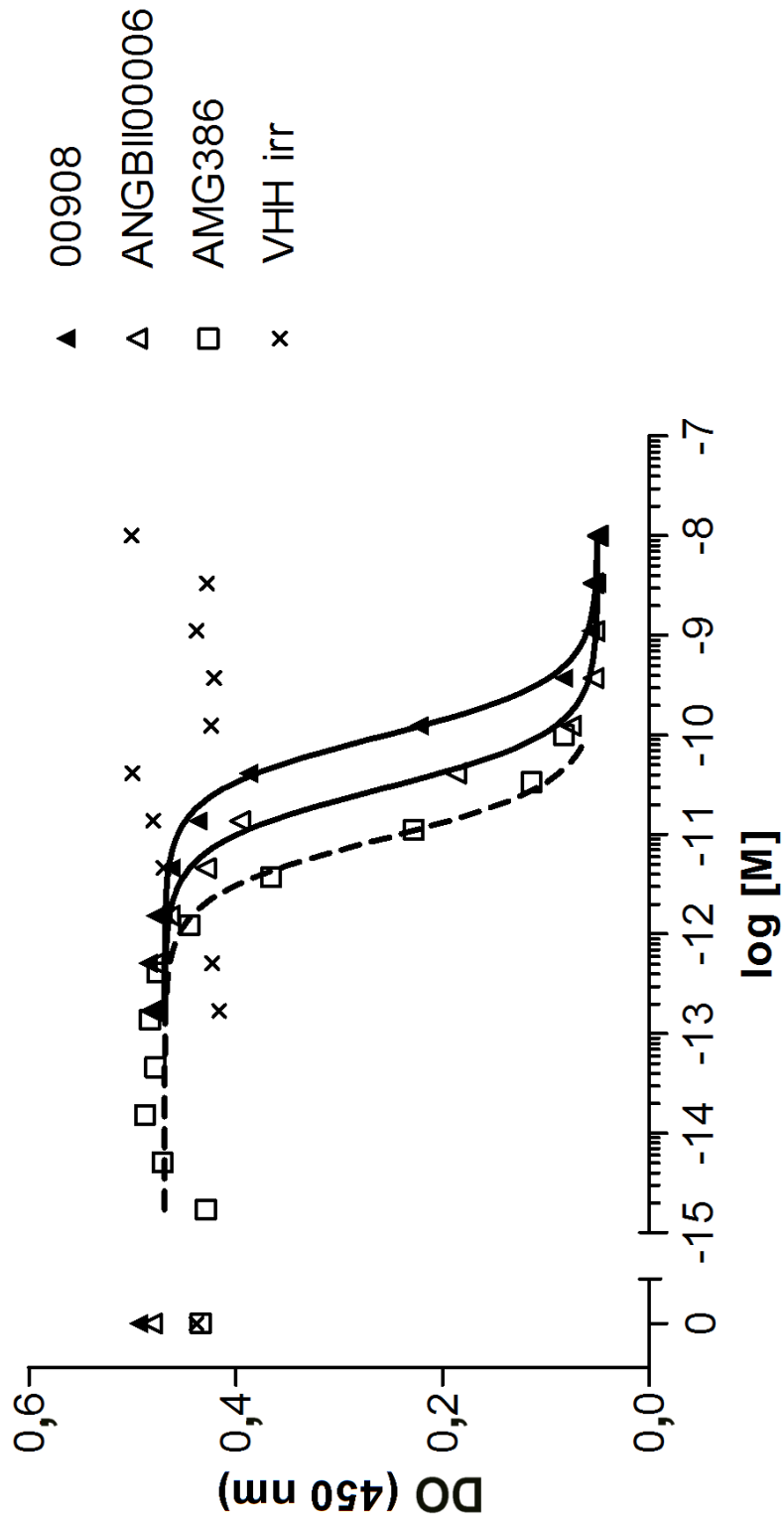


Figura 21-3A

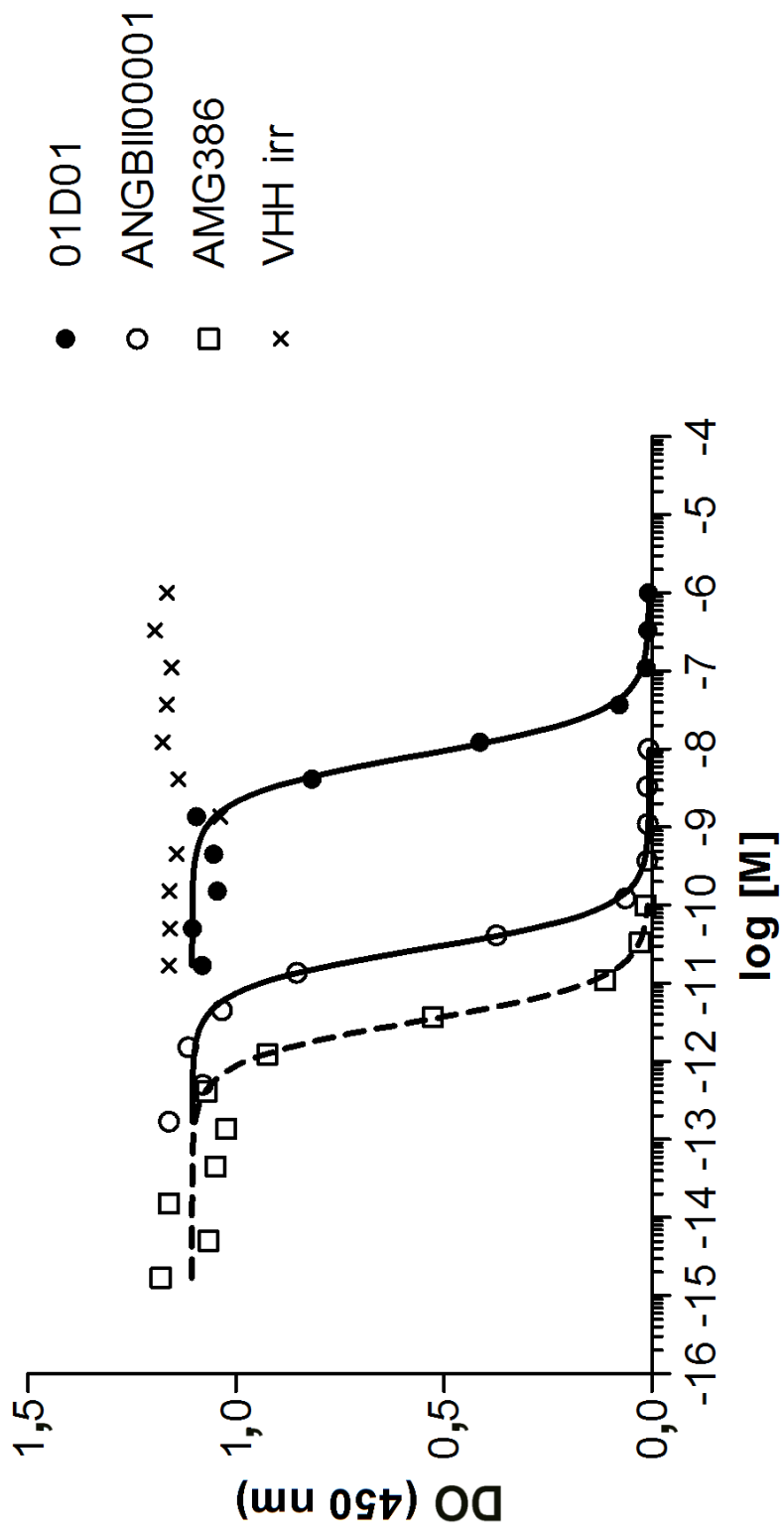


Figura 21-3B

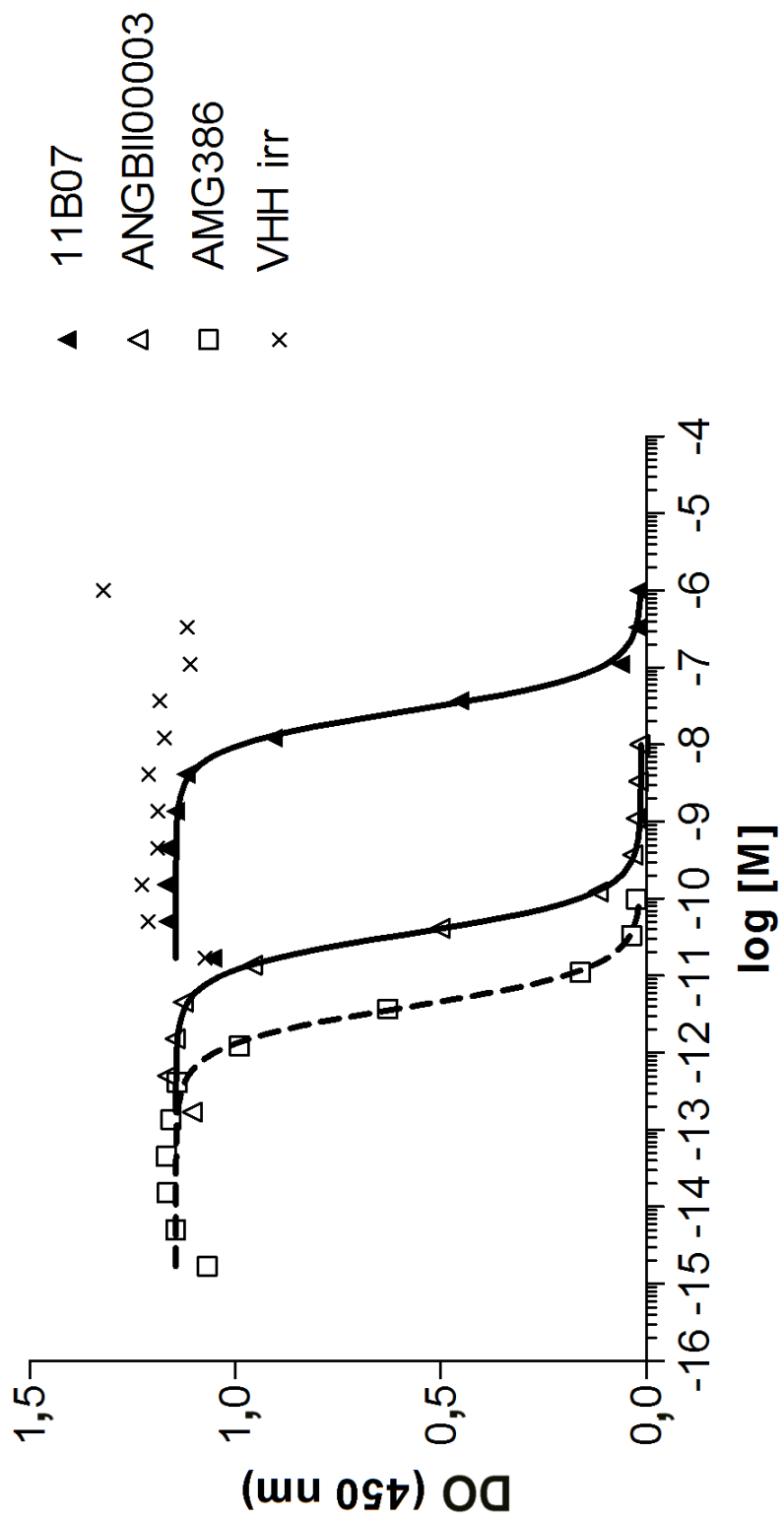


Figura 2I-3C

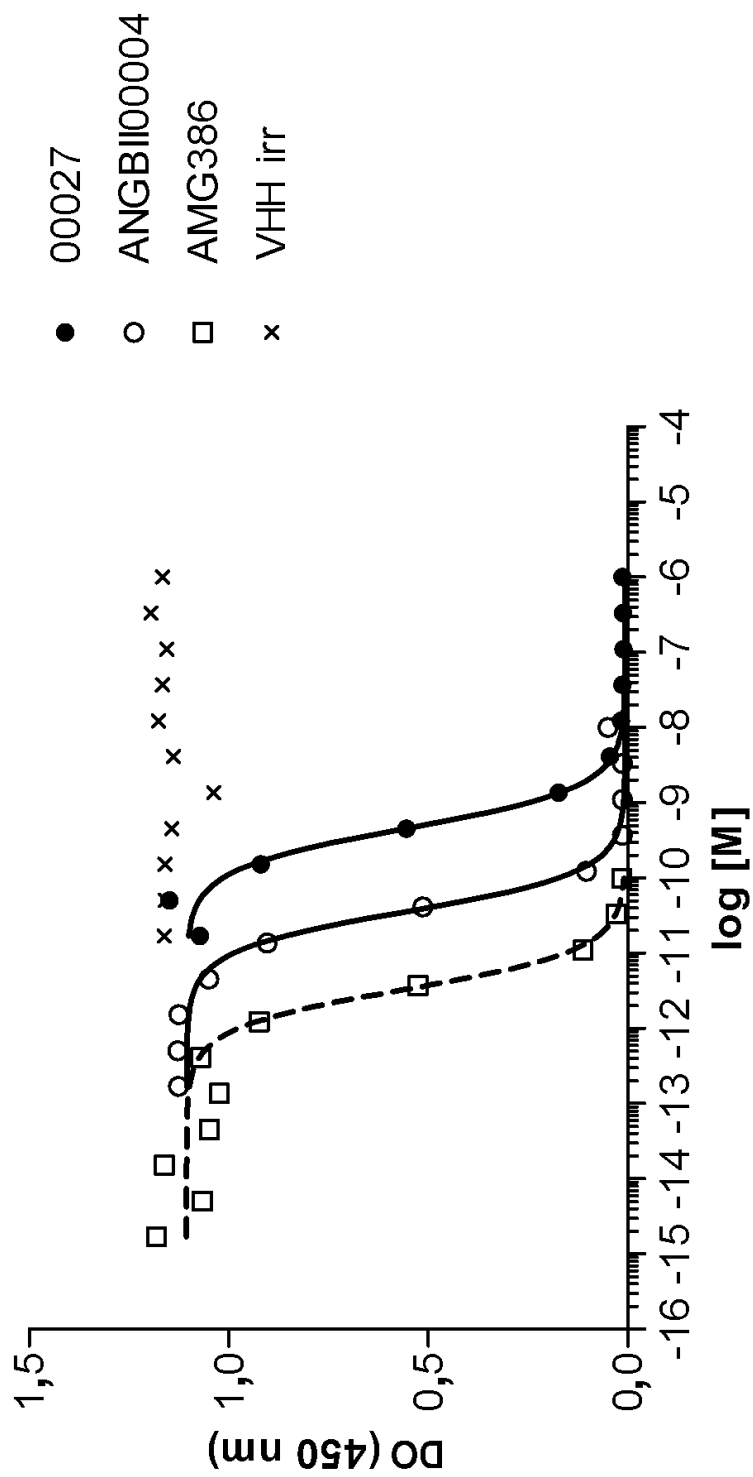


Figura 21-3D

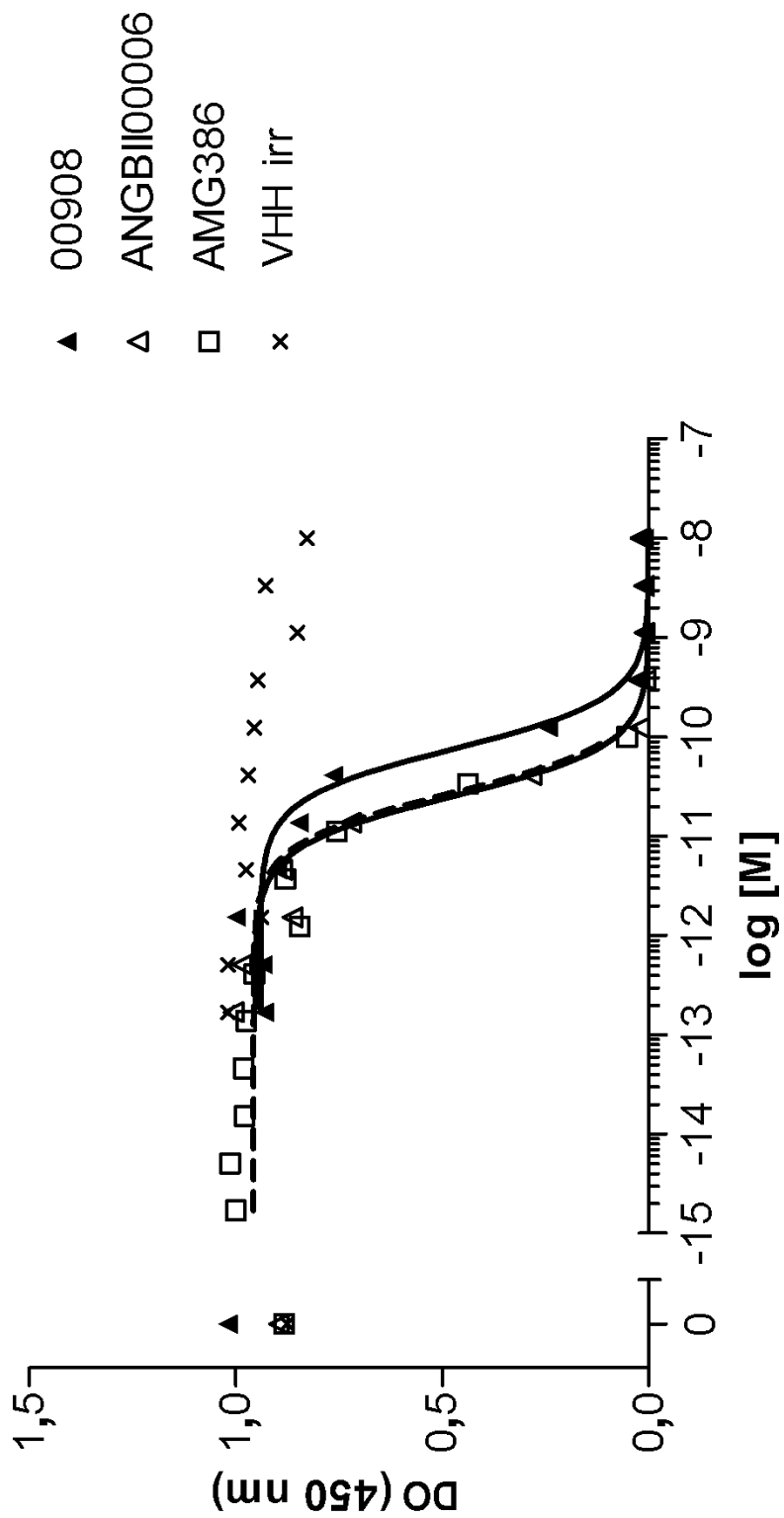


Figura 22

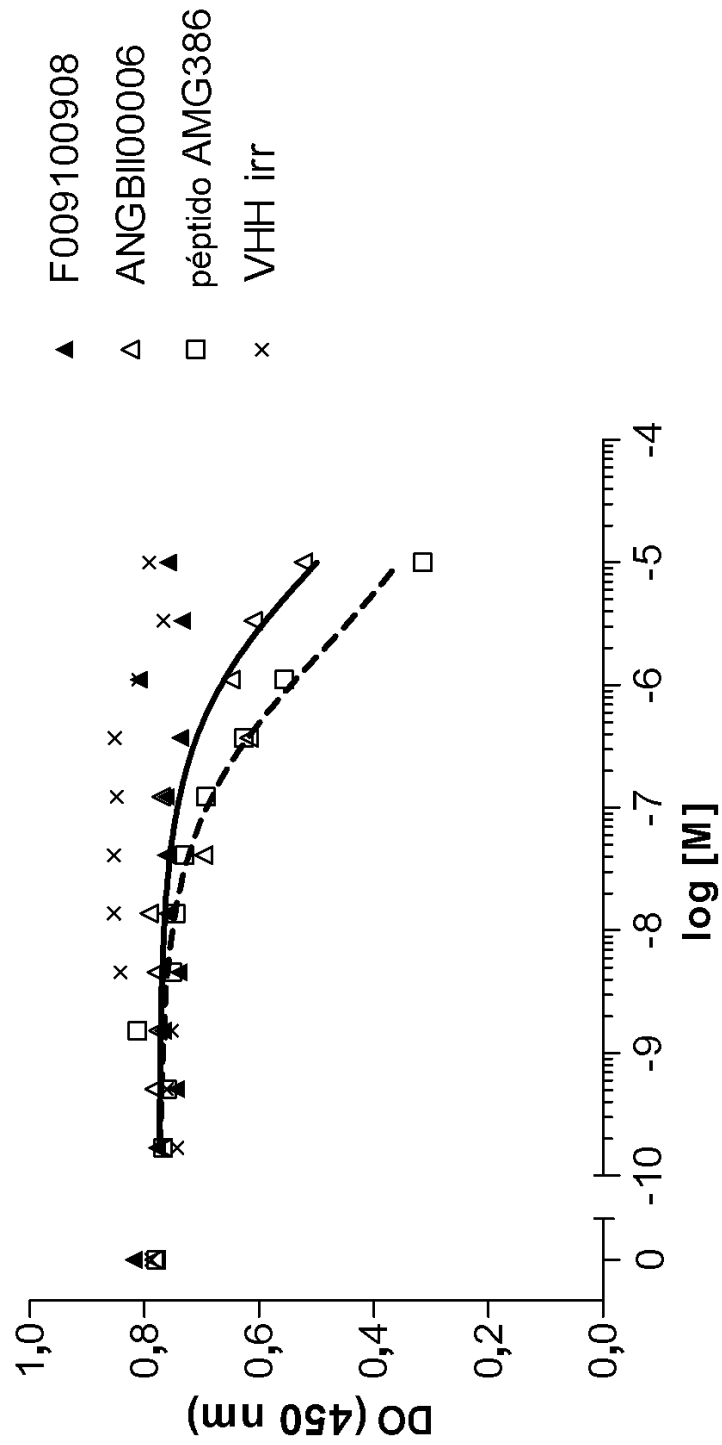



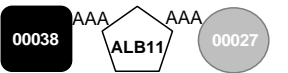


Figura 23

ID VHH	Formato	Descripción
VEGFANGBII00001		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00027
VEGFANGBII00002		00027-9gs-ALB11-9gs-VEGFBII00038
VEGFANGBII00003		00027-9gs-VEGFBII00038-9gs-ALB11
VEGFANGBII00004		VEGFBII00038-AAA-ALB11-AAA-00027

Leyenda:





	Descripción
	VEGFBII00038
	00027
	ALB11
AAA	enlazador <i>triple</i> <i>Ala</i>
	enlazador <i>9</i> <i>GlySer</i>

Figura 24A

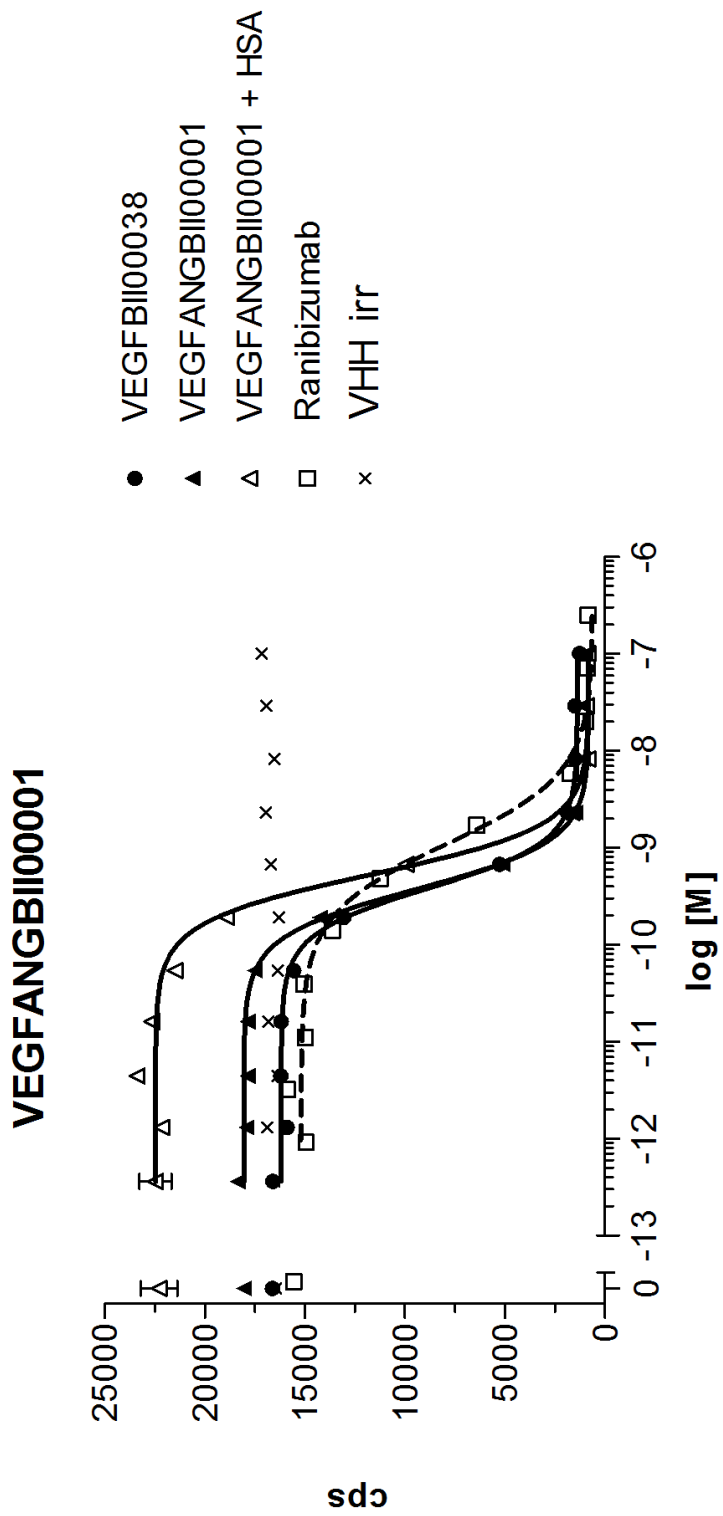


Figura 24B

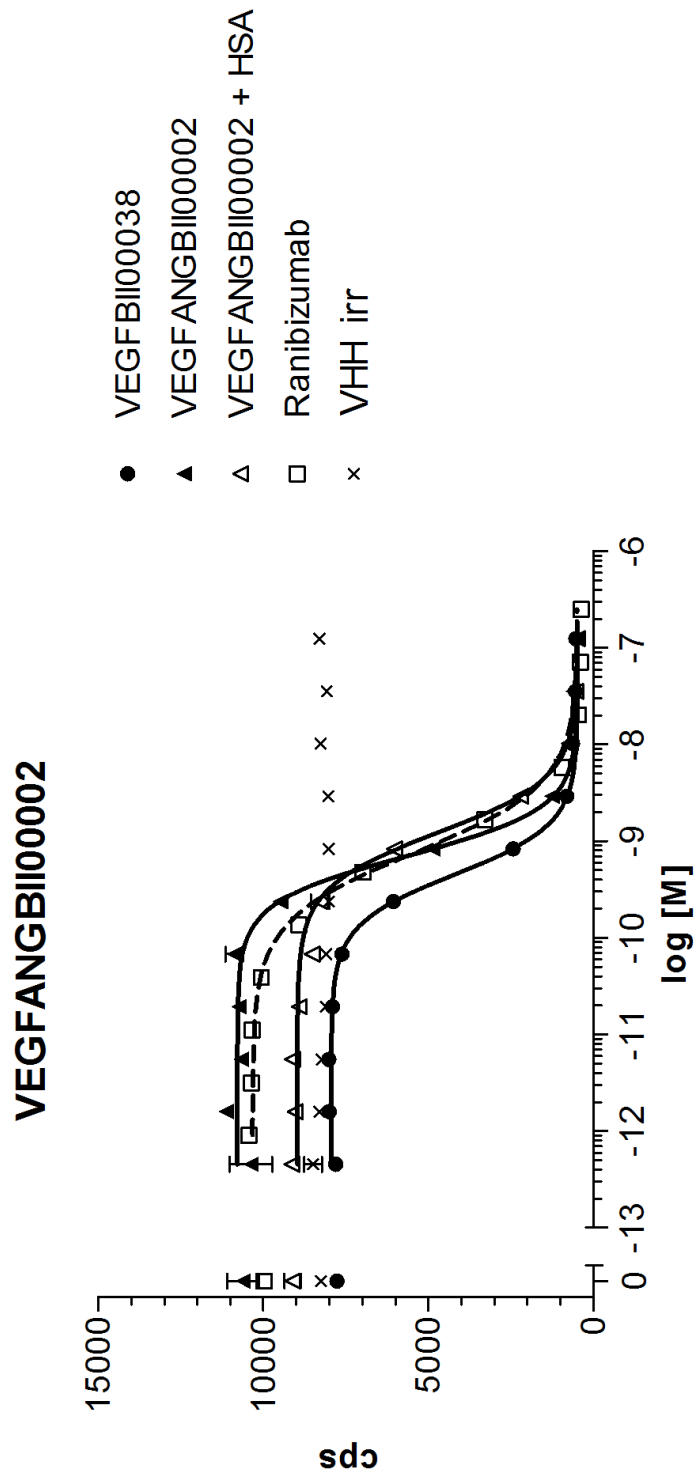


Figura 24C

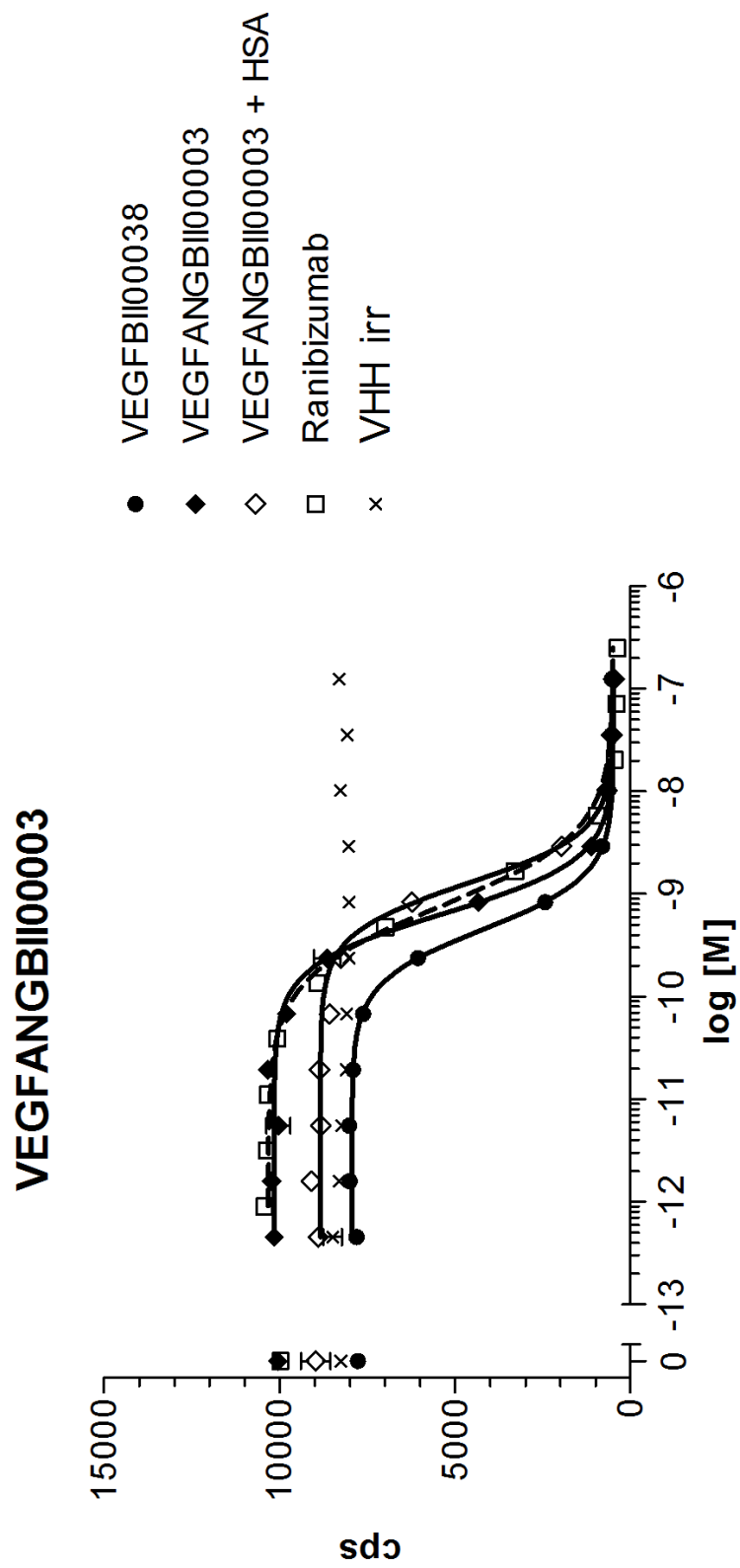


Figura 24D

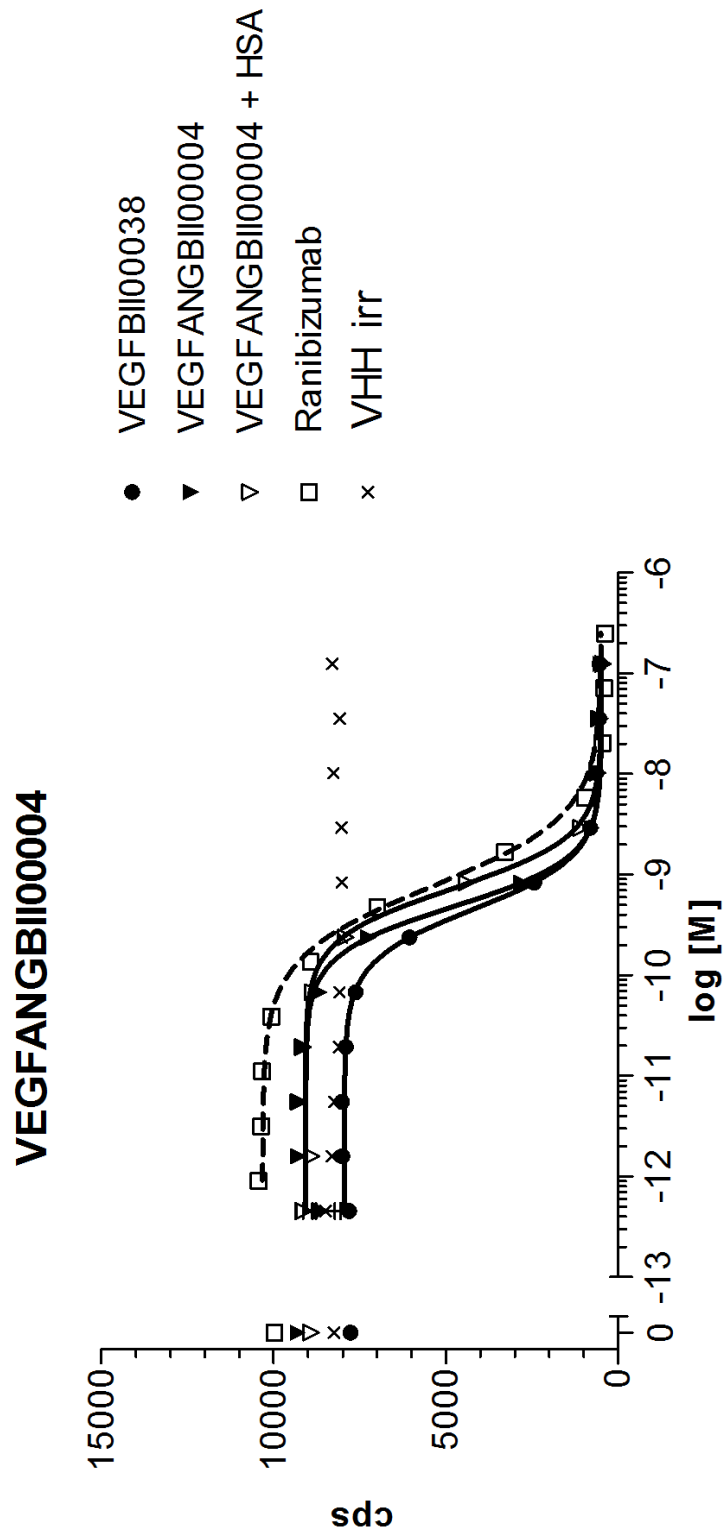


Figura 25A

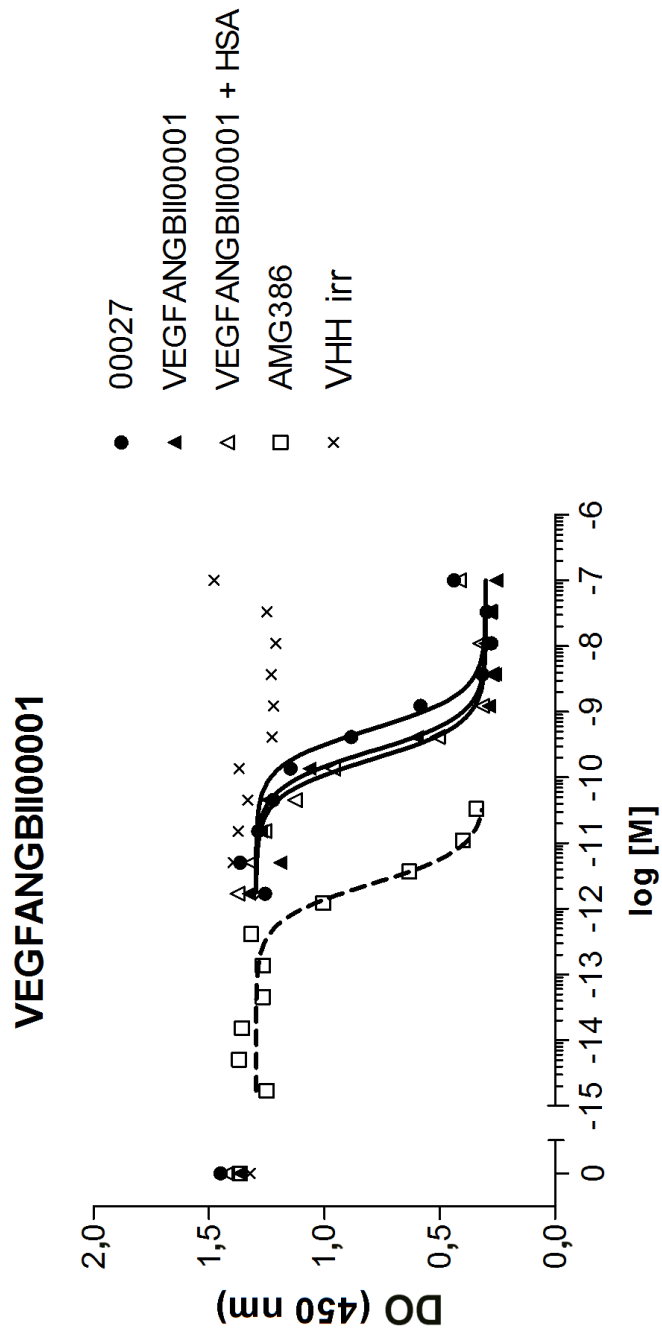


Figura 25B

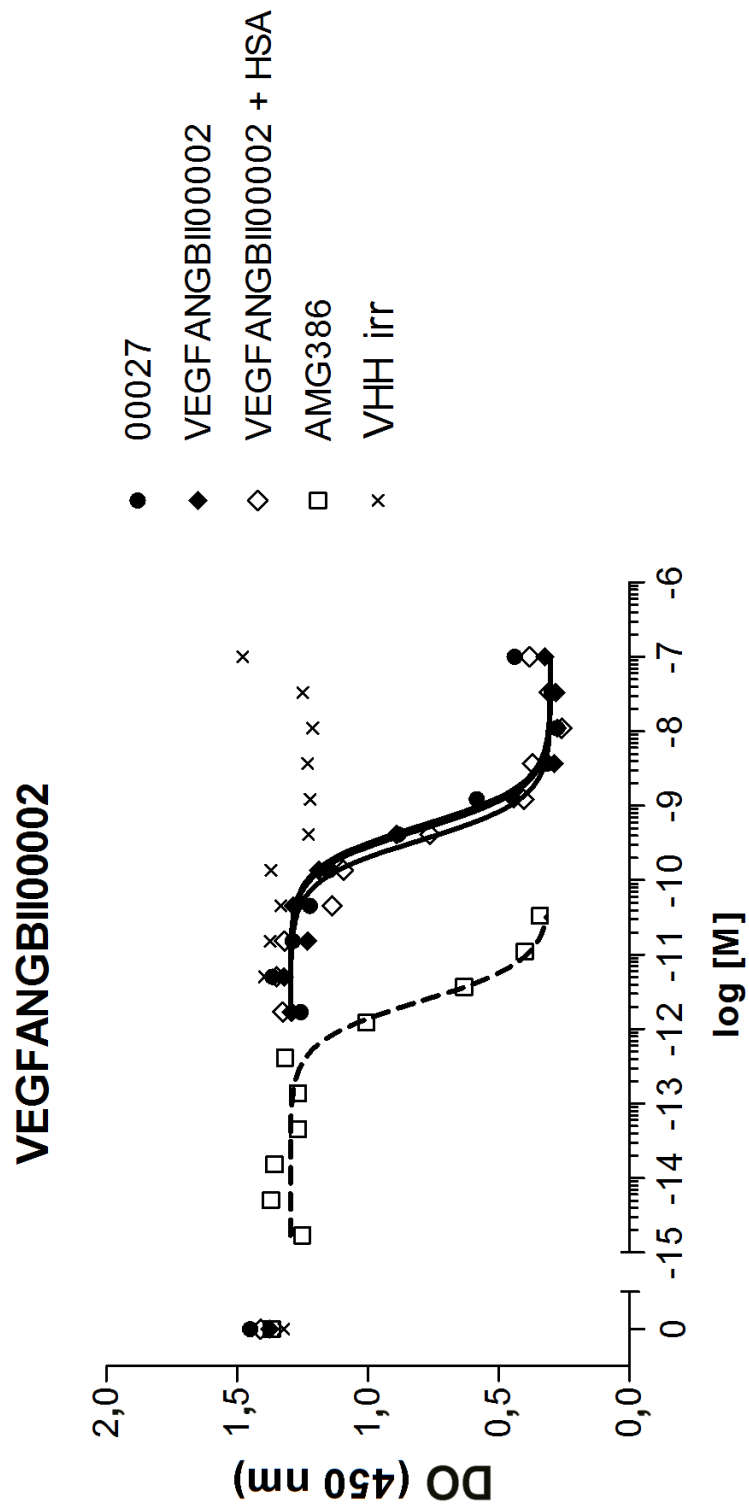


Figura 25C

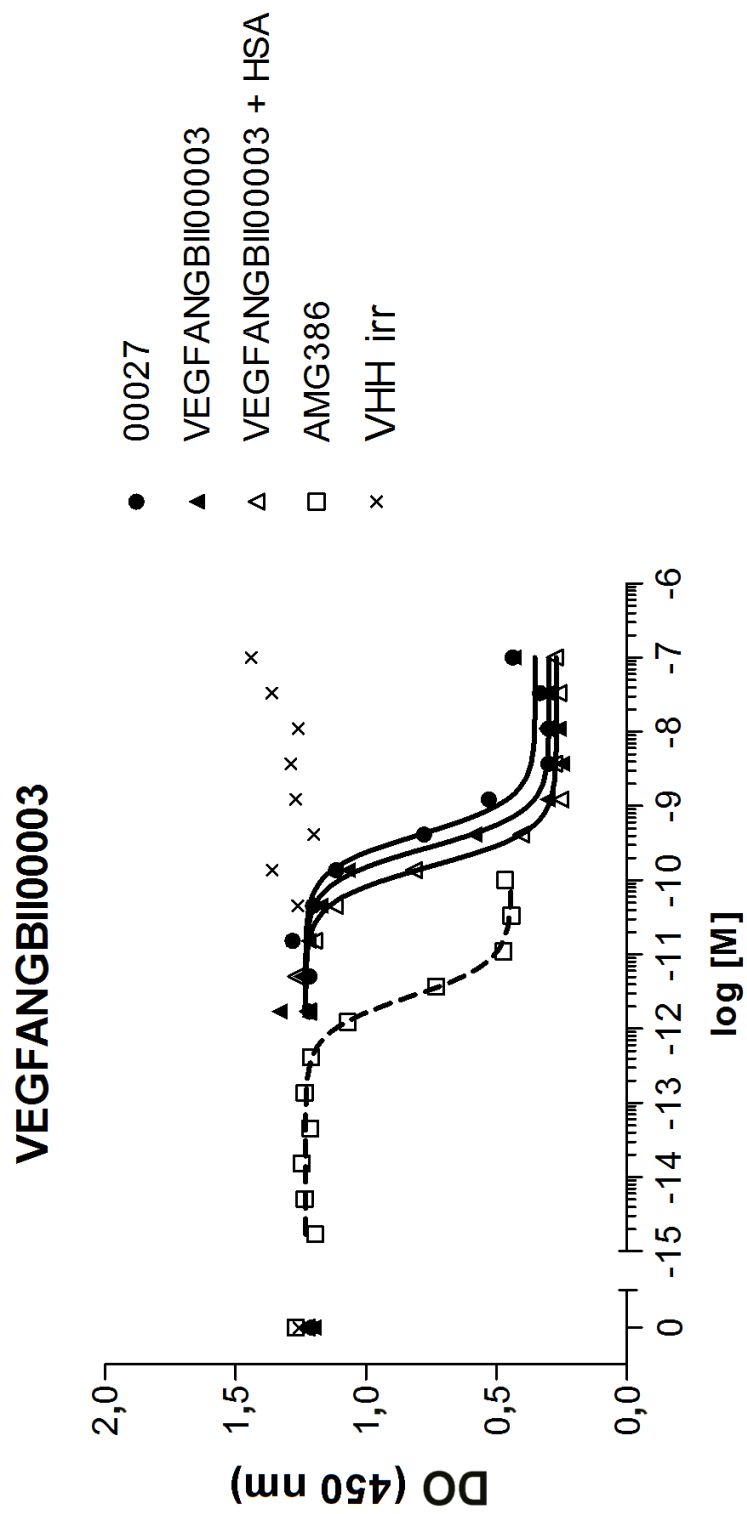


Figura 25D

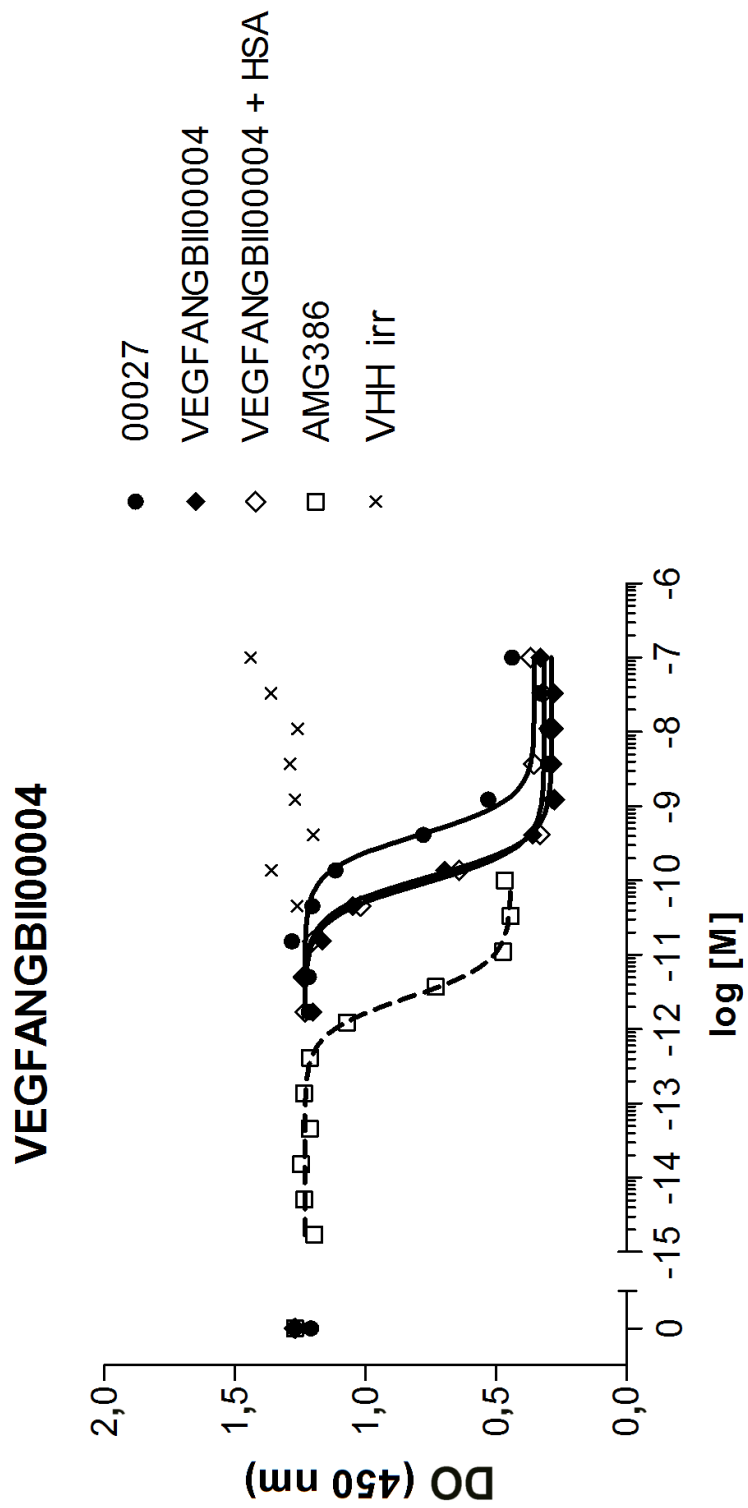


Figura 26

ID VHH	Formato	Descripción
VEGFANGBII00005		VEGFBII00038-9gs-7G08-9gs-ALB11
VEGFANGBII00006		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-7G08
VEGFANGBII00007		VEGFBII00038-9gs-7G08-9gs-ALB11-9gs-7G08
VEGFANGBII00008		VEGFBII00038-9gs-00027-9gs-00027-9gs-ALB11
VEGFANGBII00009		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00027-9gs-00027
VEGFANGBII00010		VEGFBII00038-9gs-00027-9gs-ALB11-9gs-00027
VEGFANGBII00011		VEGFBII00038-9gs-1D01-9gs-1D01-9gs-ALB11
VEGFANGBII00012		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-1D01-9gs-1D01
VEGFANGBII00013		VEGFBII00038-9gs-1D01-9gs-ALB11-9gs-1D01
VEGFANGBII00014		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-1D01

Leyenda:

	Descripción		Descripción
	VEGFBII00038		ALB11
	00027	AAA	enlazador <i>triple Ala</i>
	1D01		enlazador <i>9 GlySer I</i>
	7G08		

Figura 27-1A

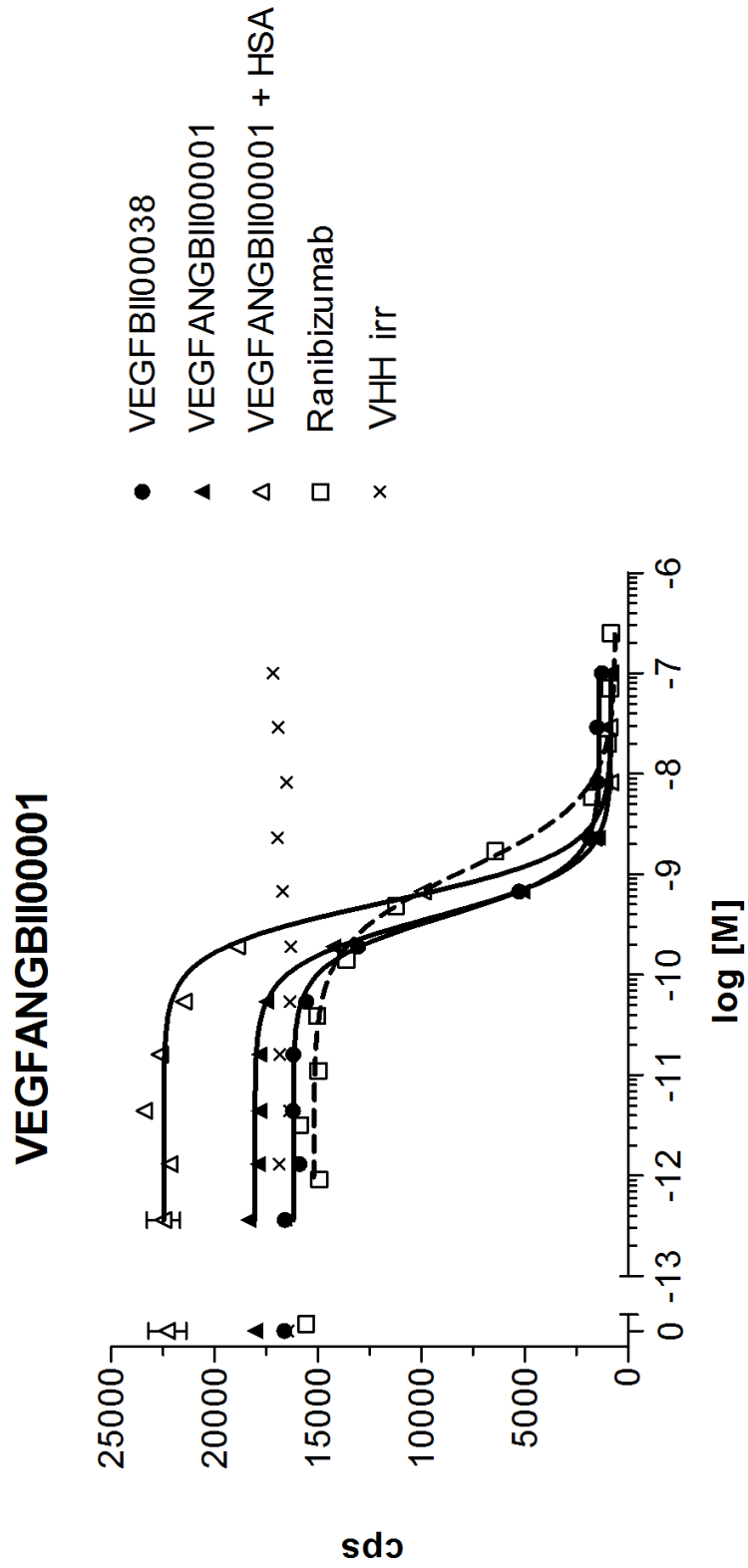


Figura 27-1B

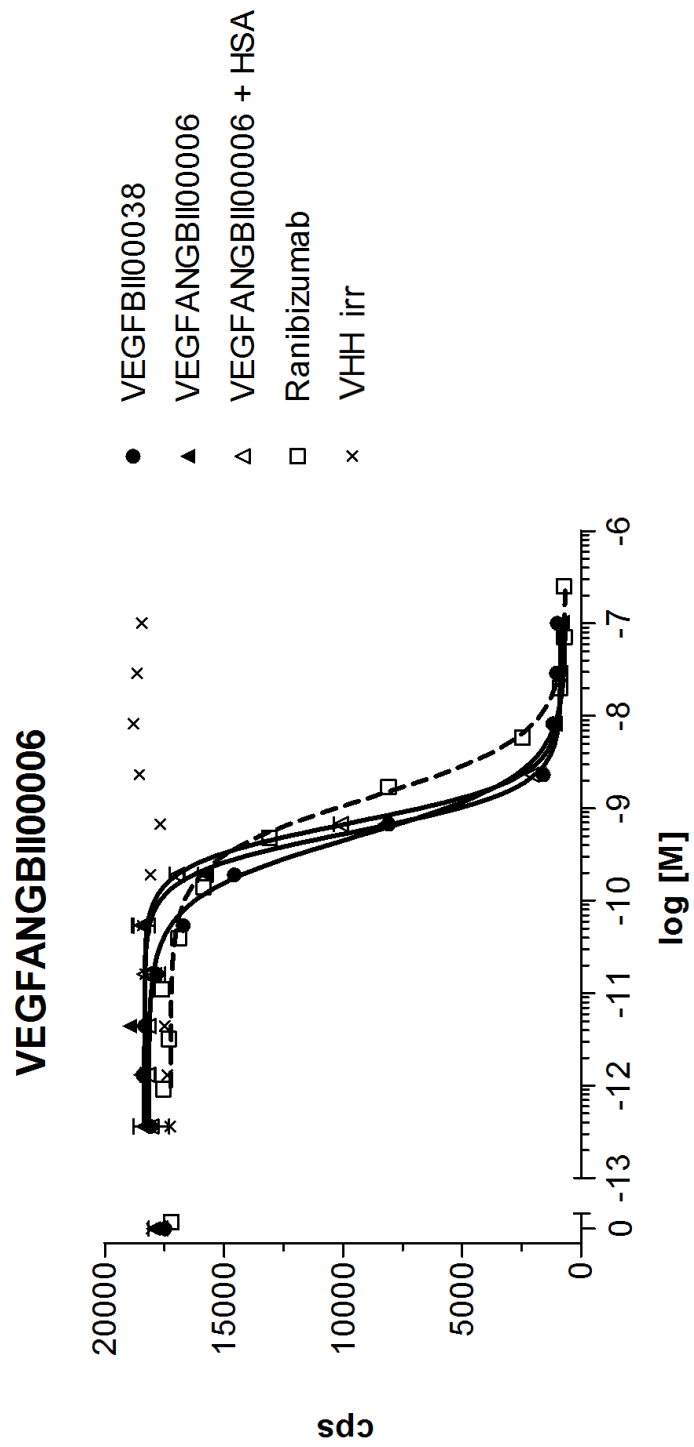


Figura 27-1C

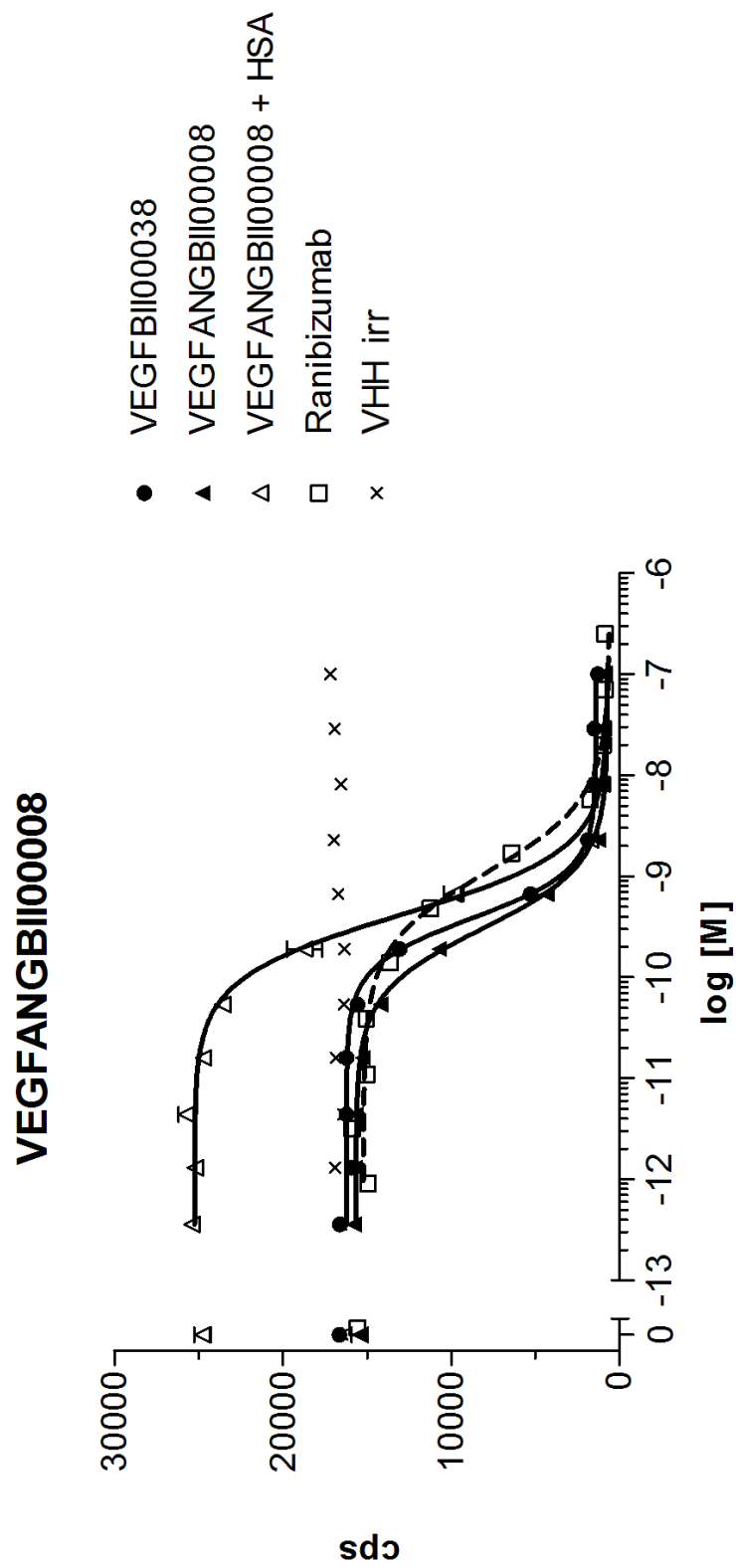


Figura 27-1D

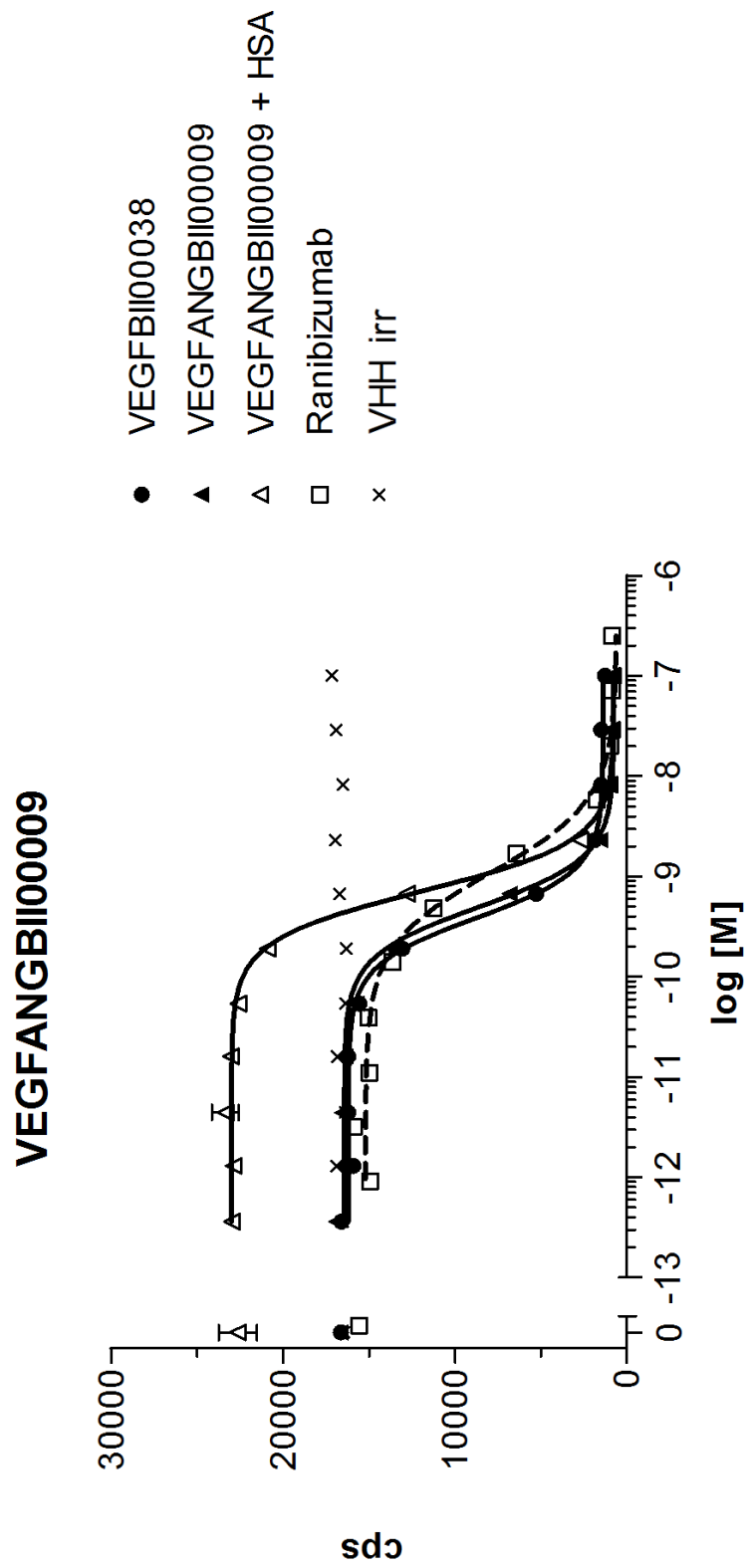


Figura 27-1E

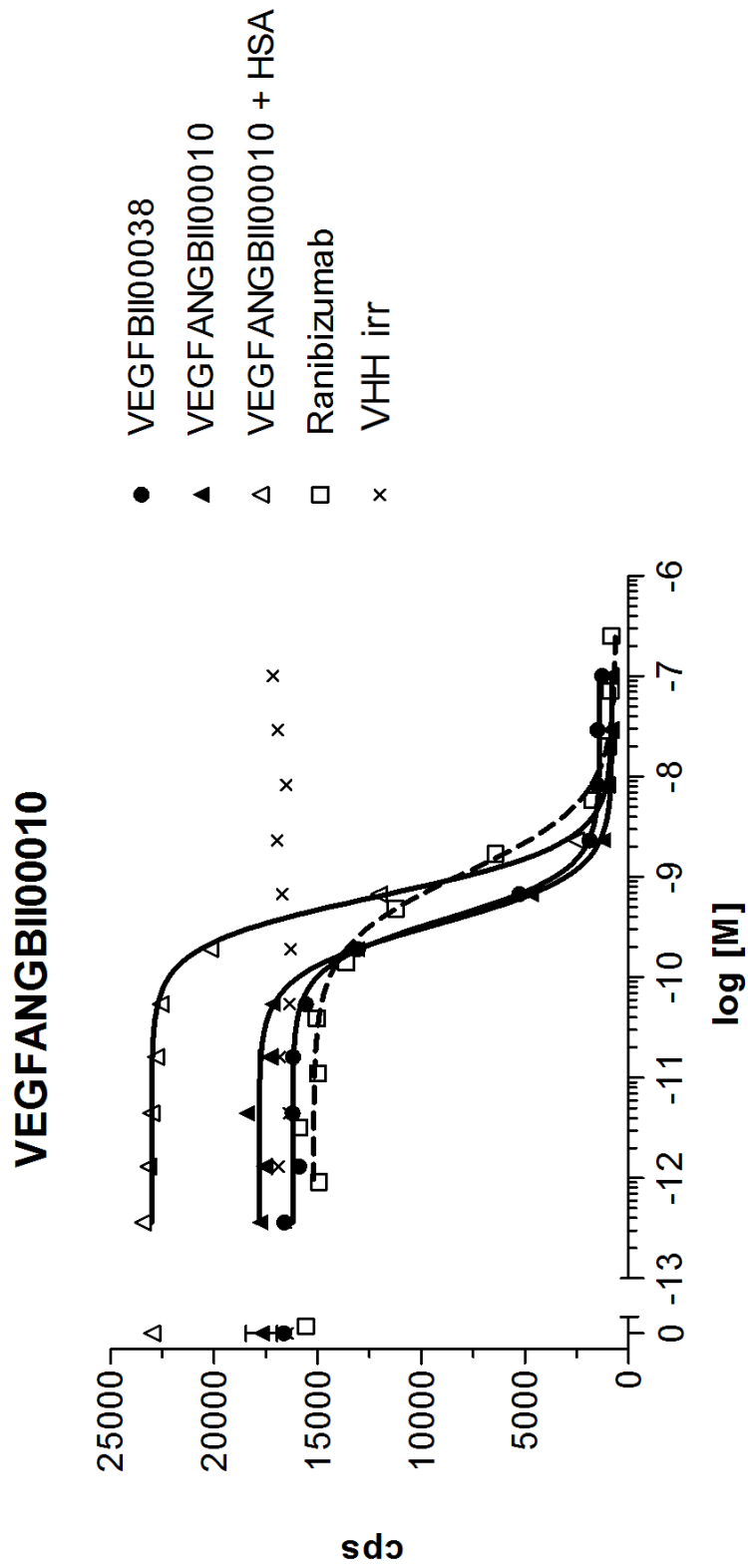


Figura 27-1F

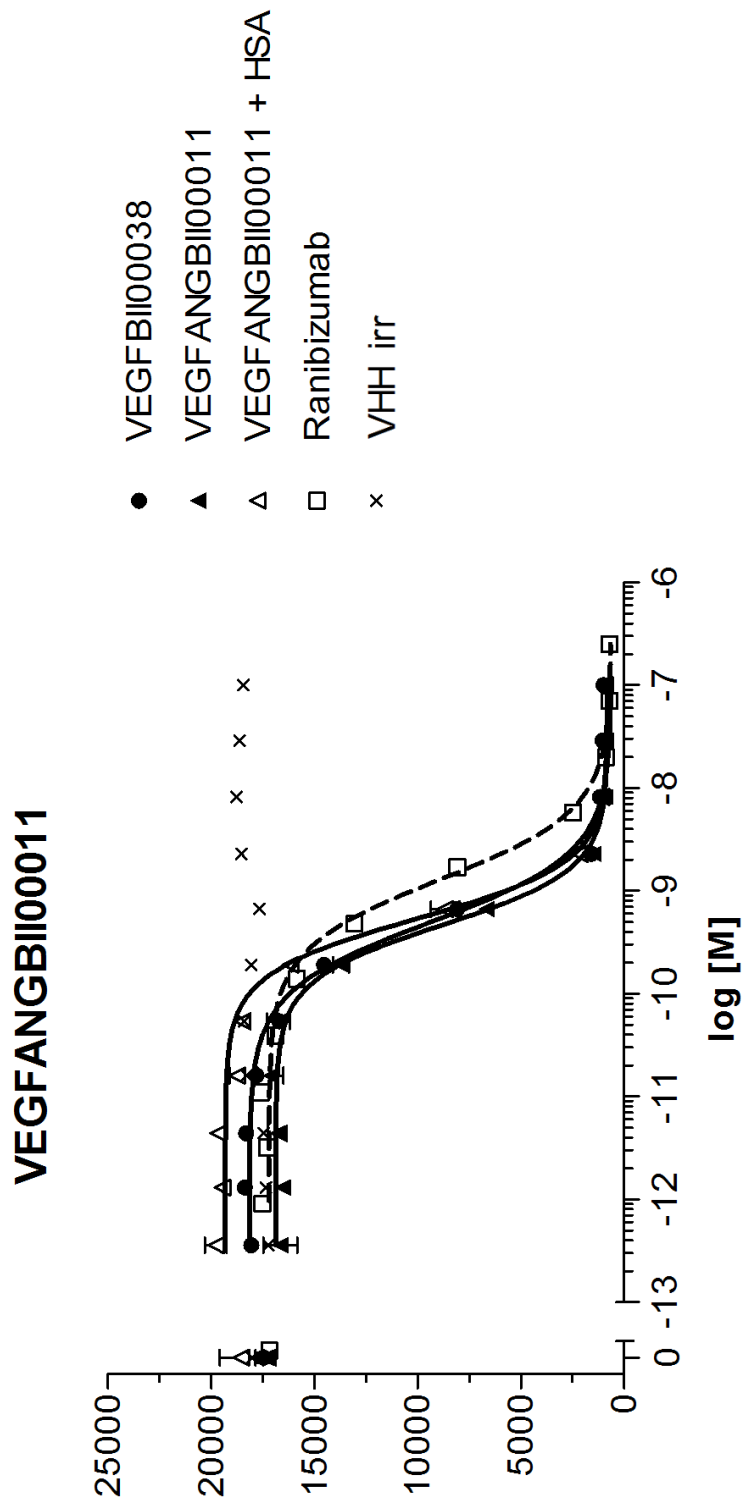


Figura 27-1G

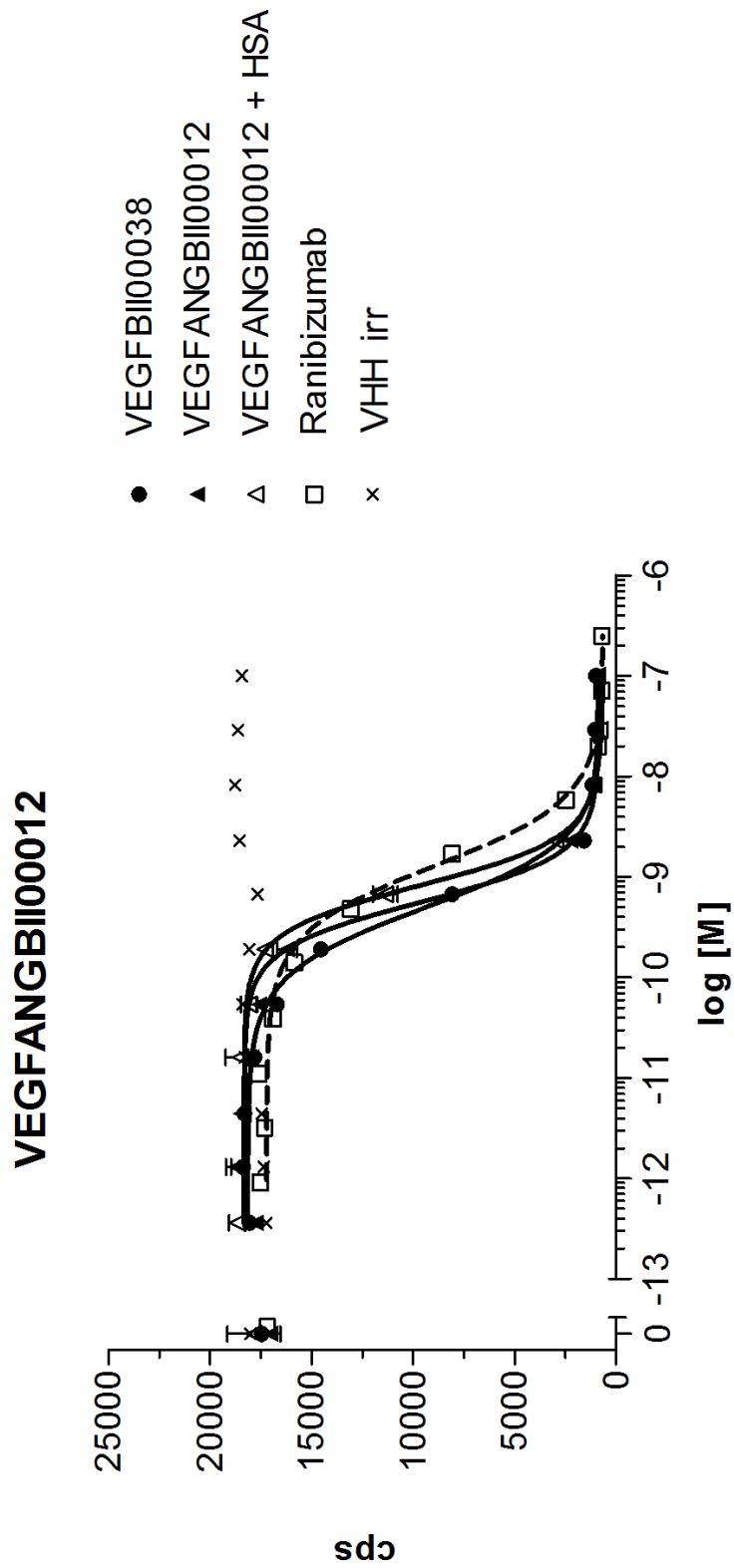


Figura 27-1H

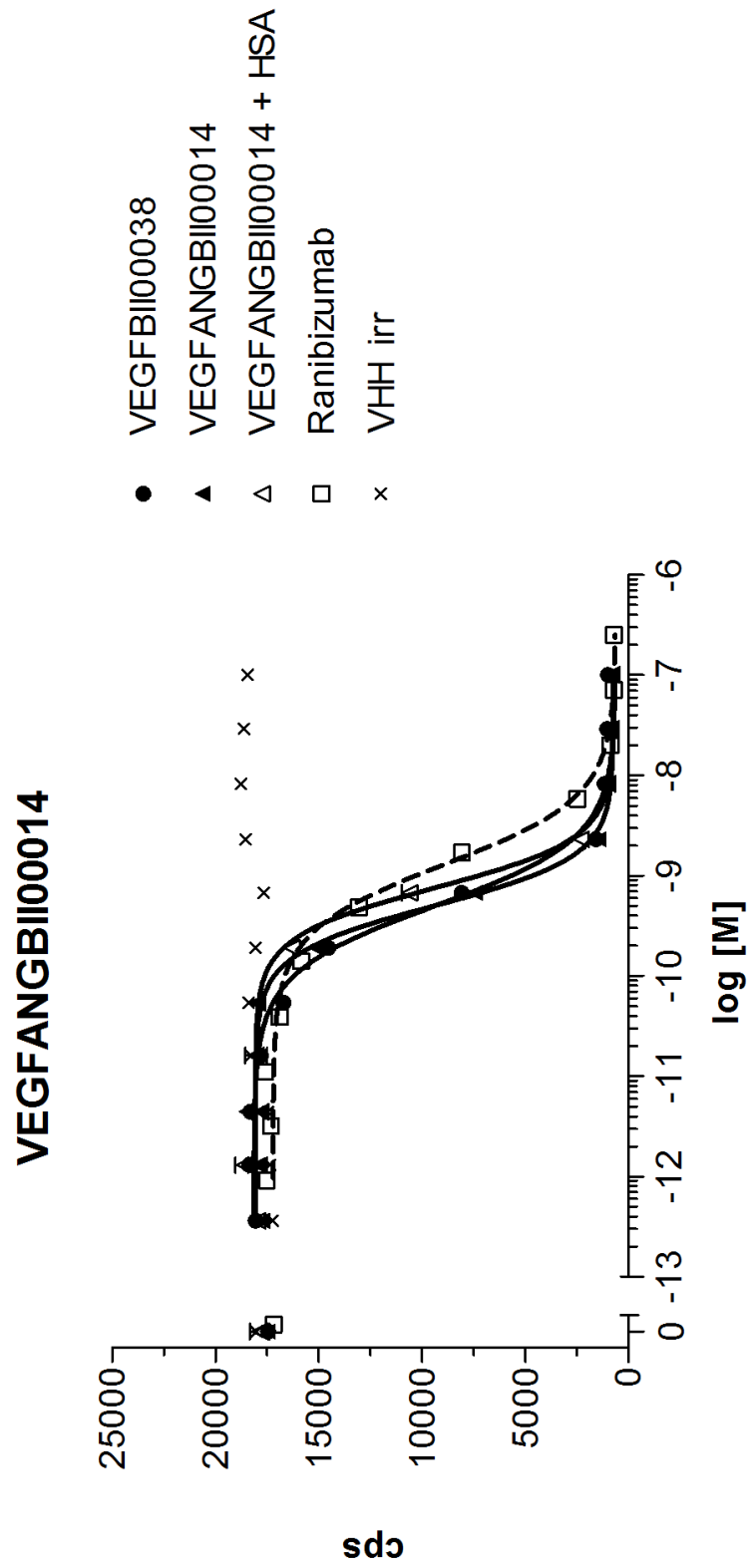


Figura 27-2A

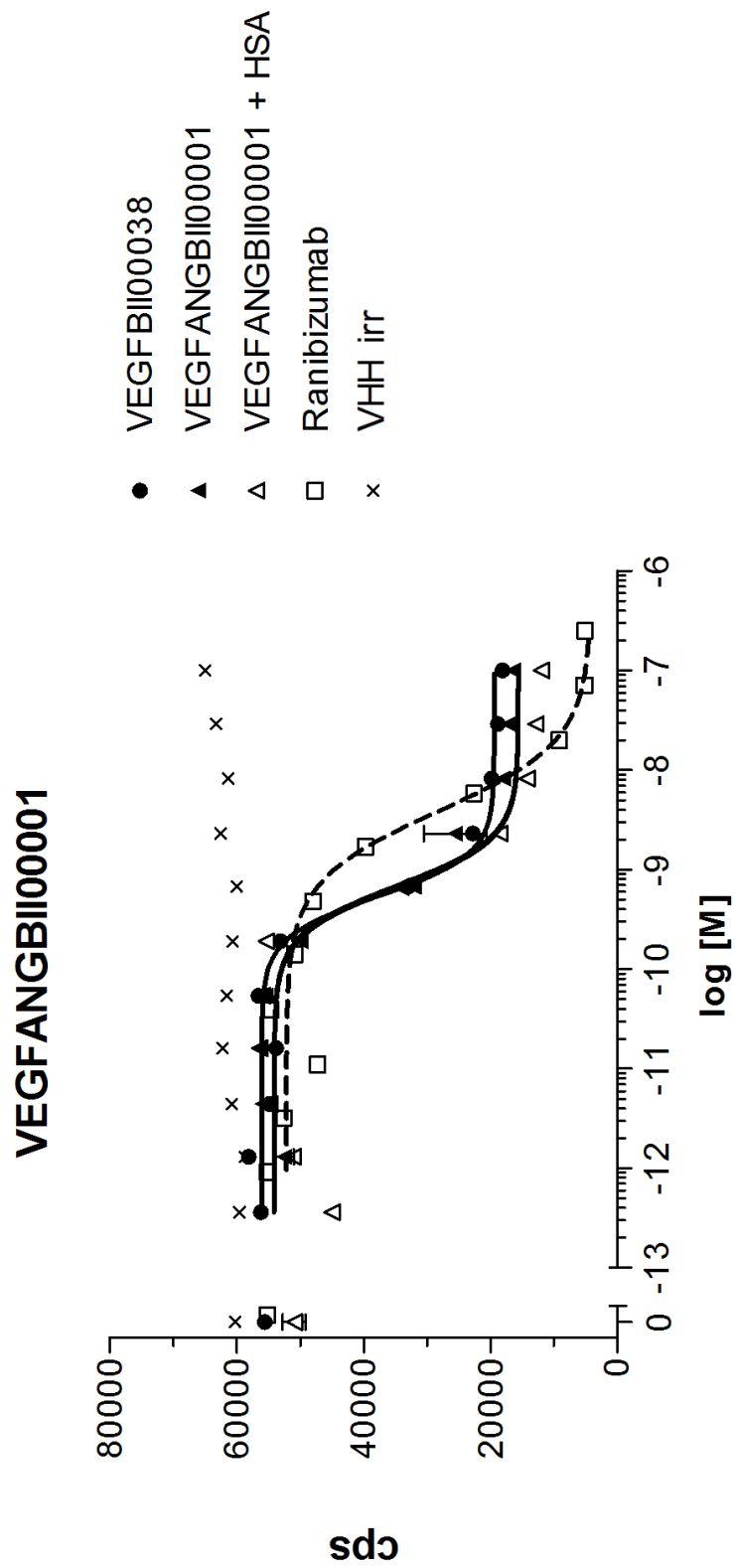


Figura 27-2B

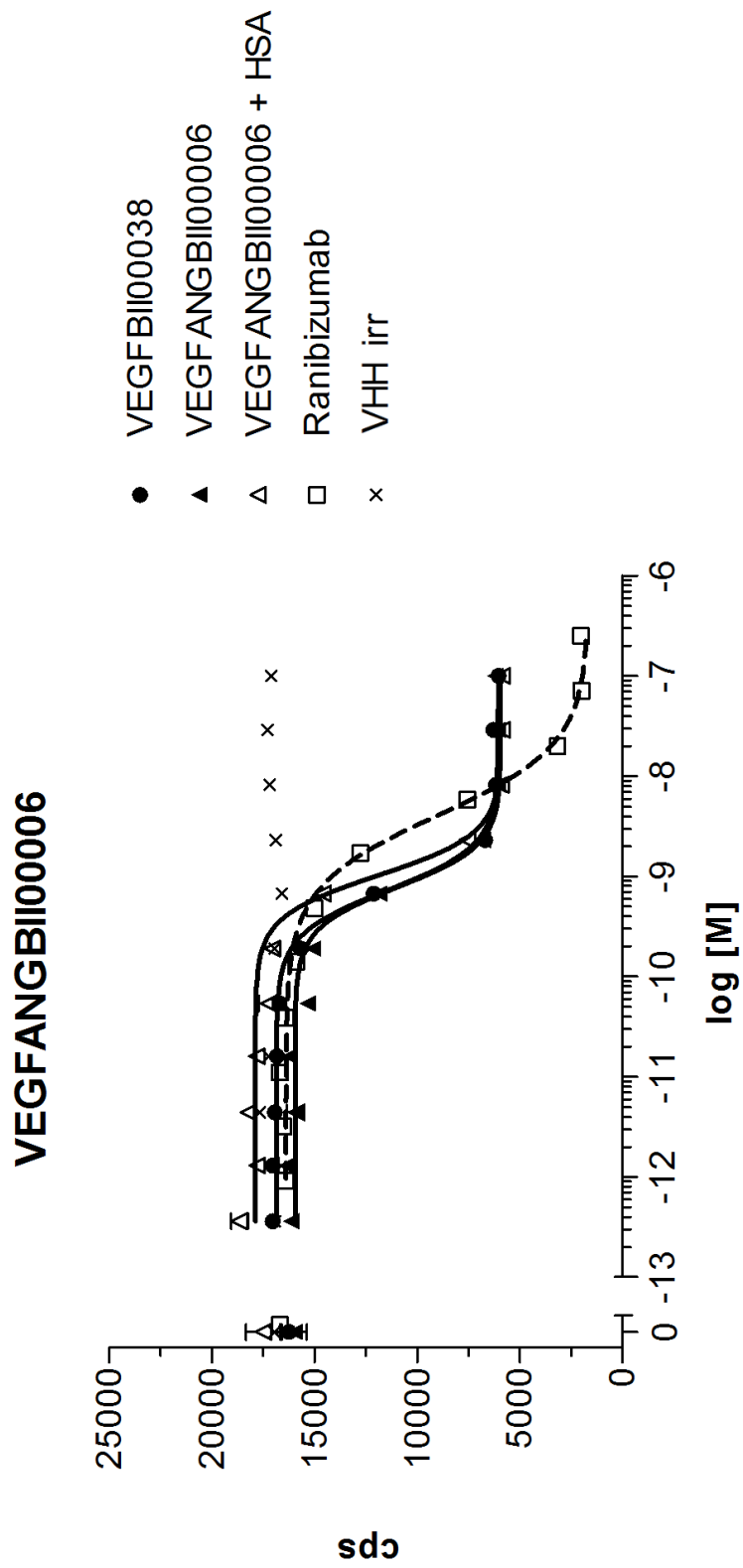


Figura 27-2C

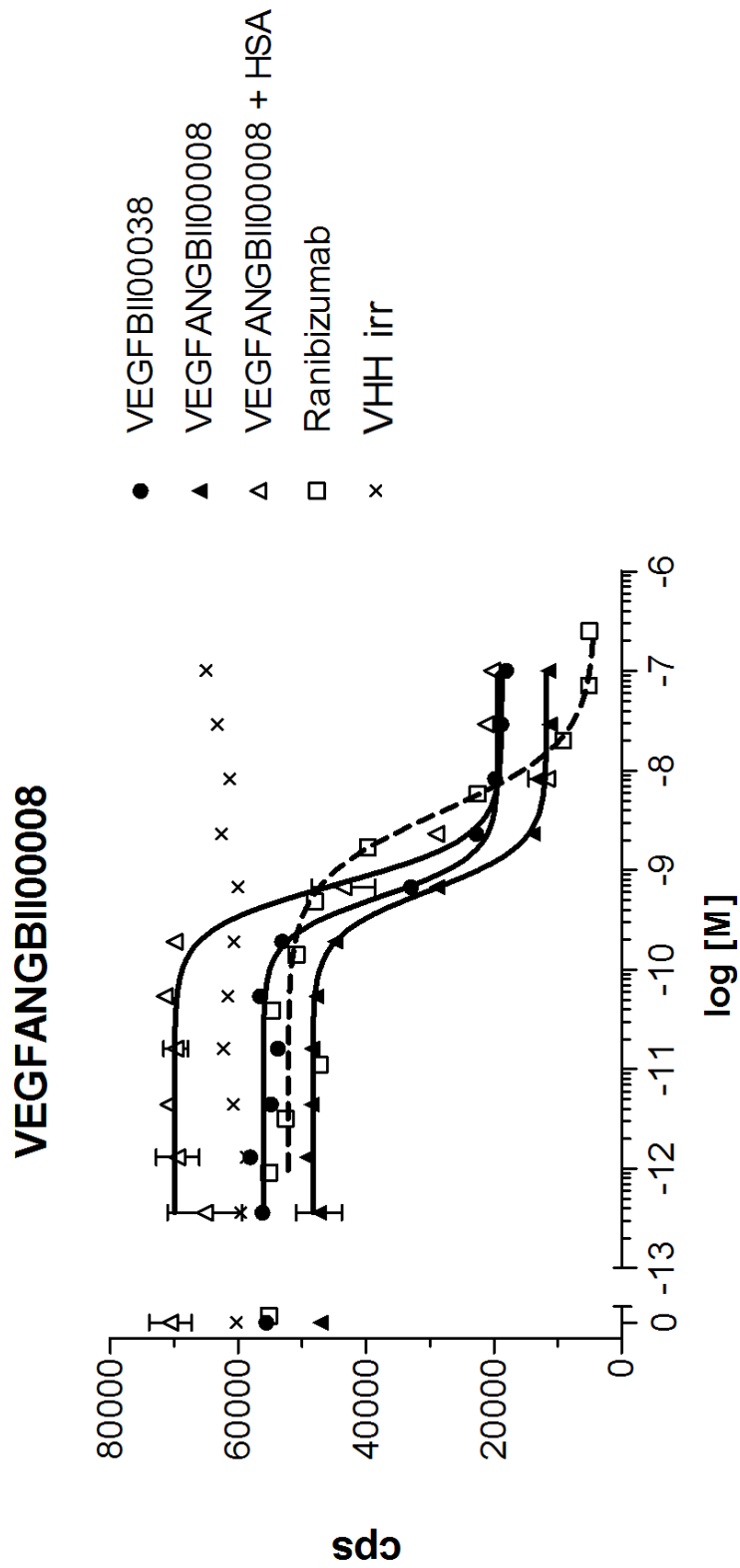


Figura 27-2D

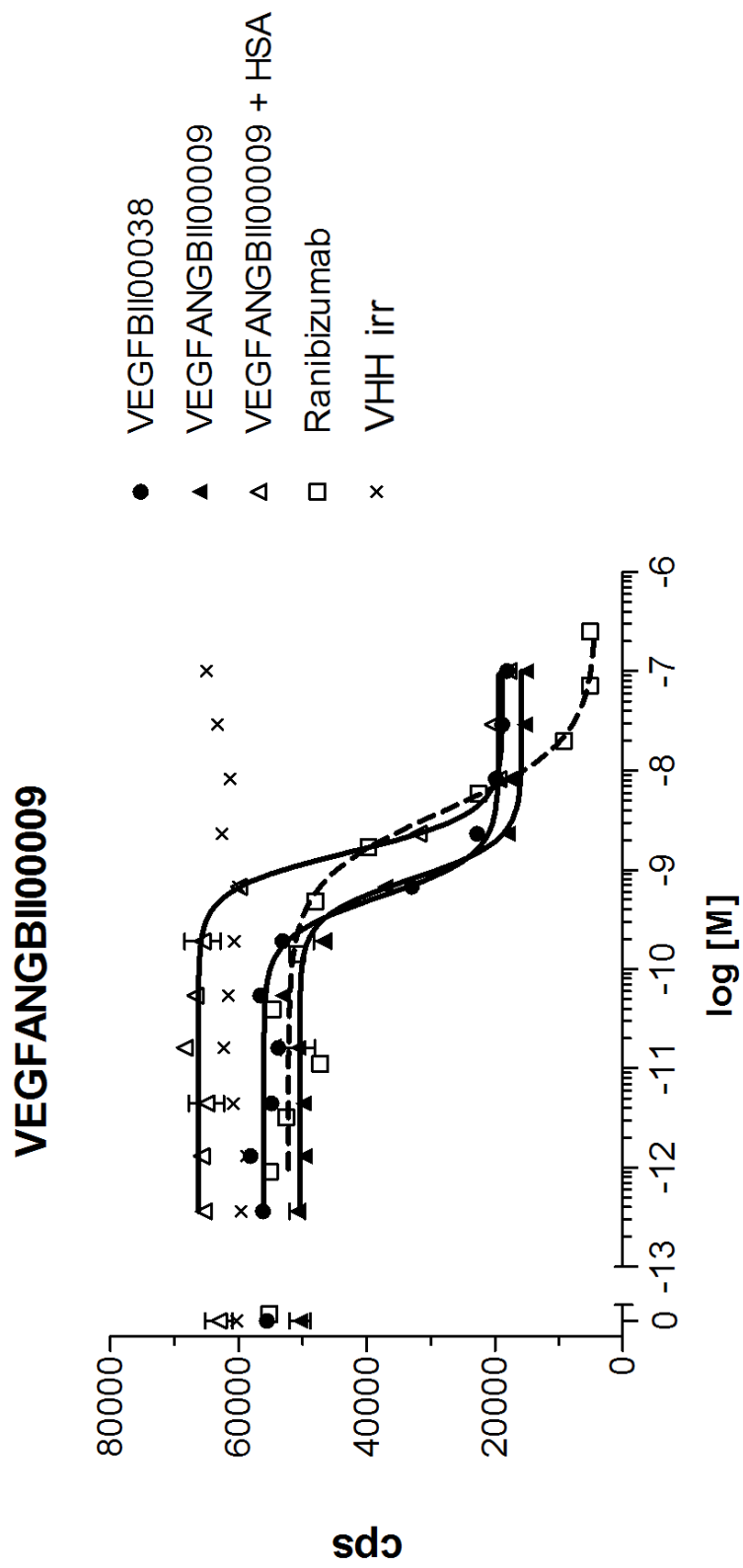


Figura 27-2E

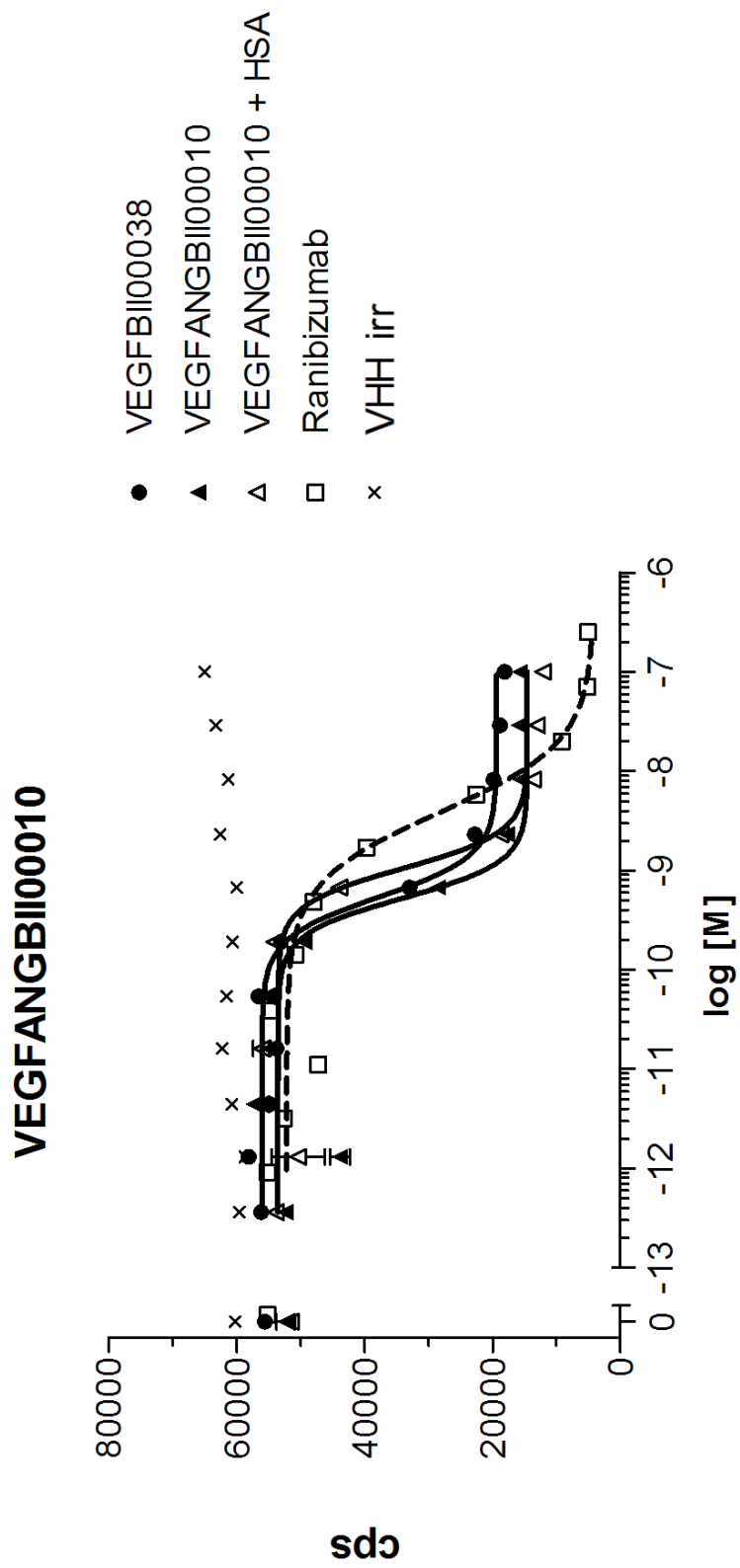


Figura 27-2F

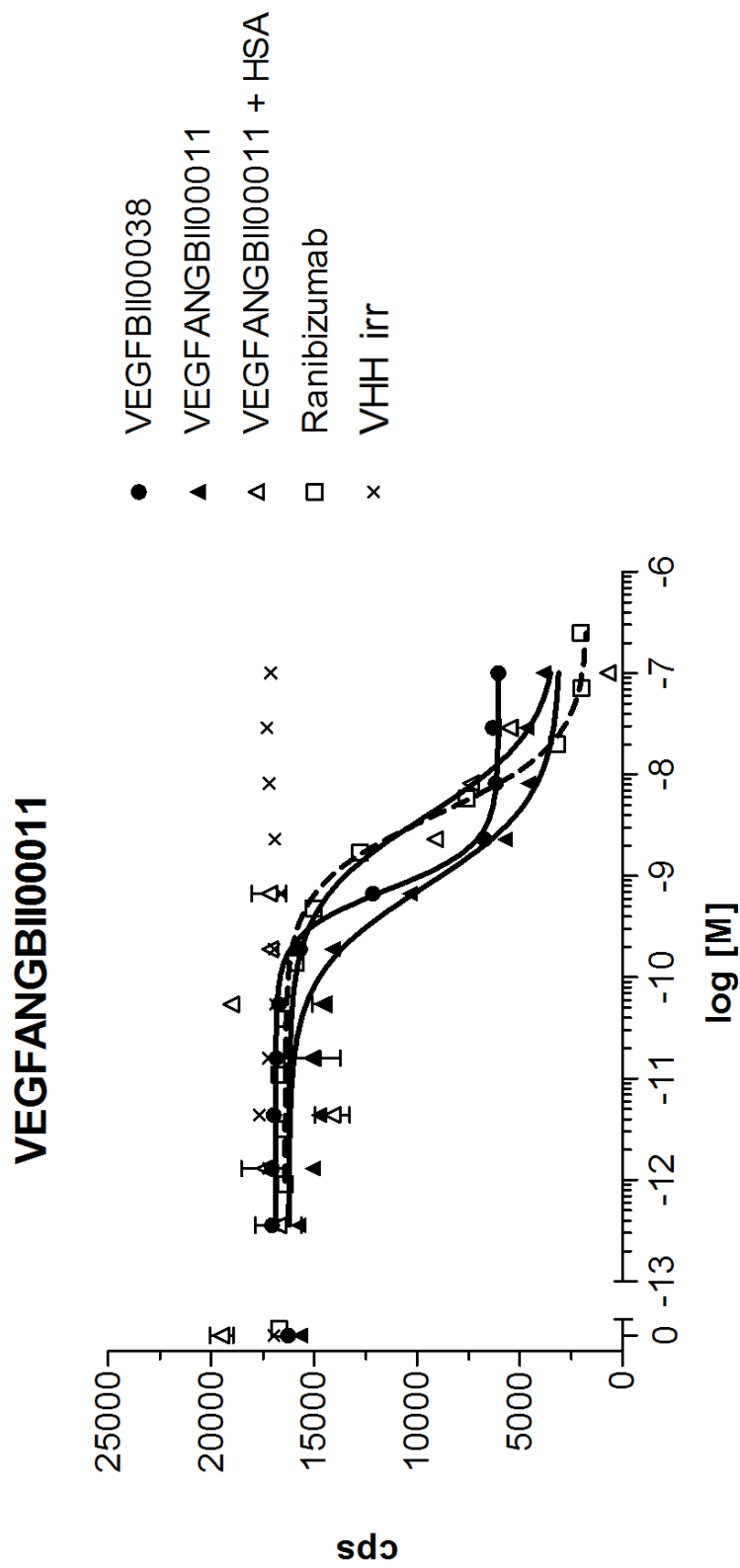


Figura 27-2G

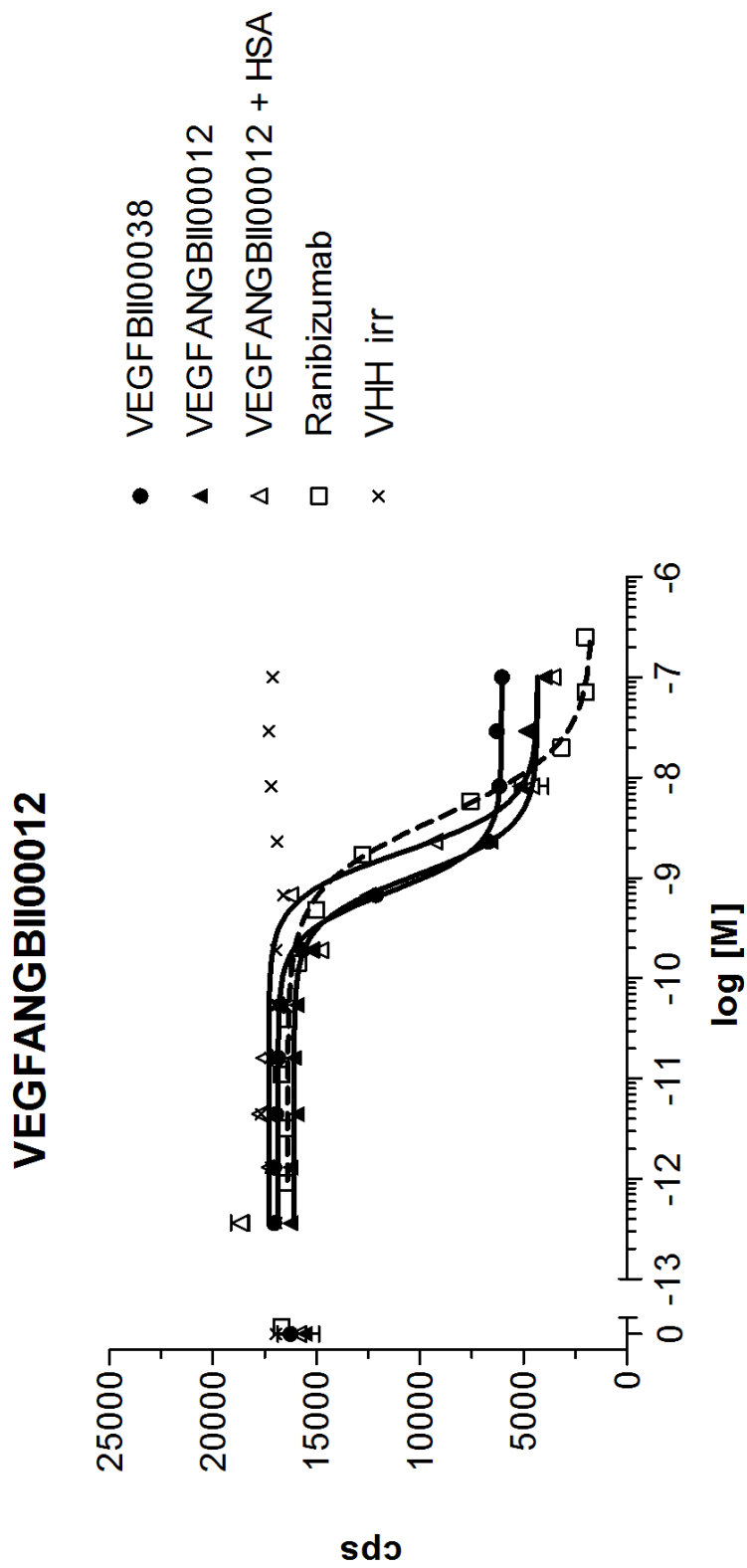


Figura 27-2H

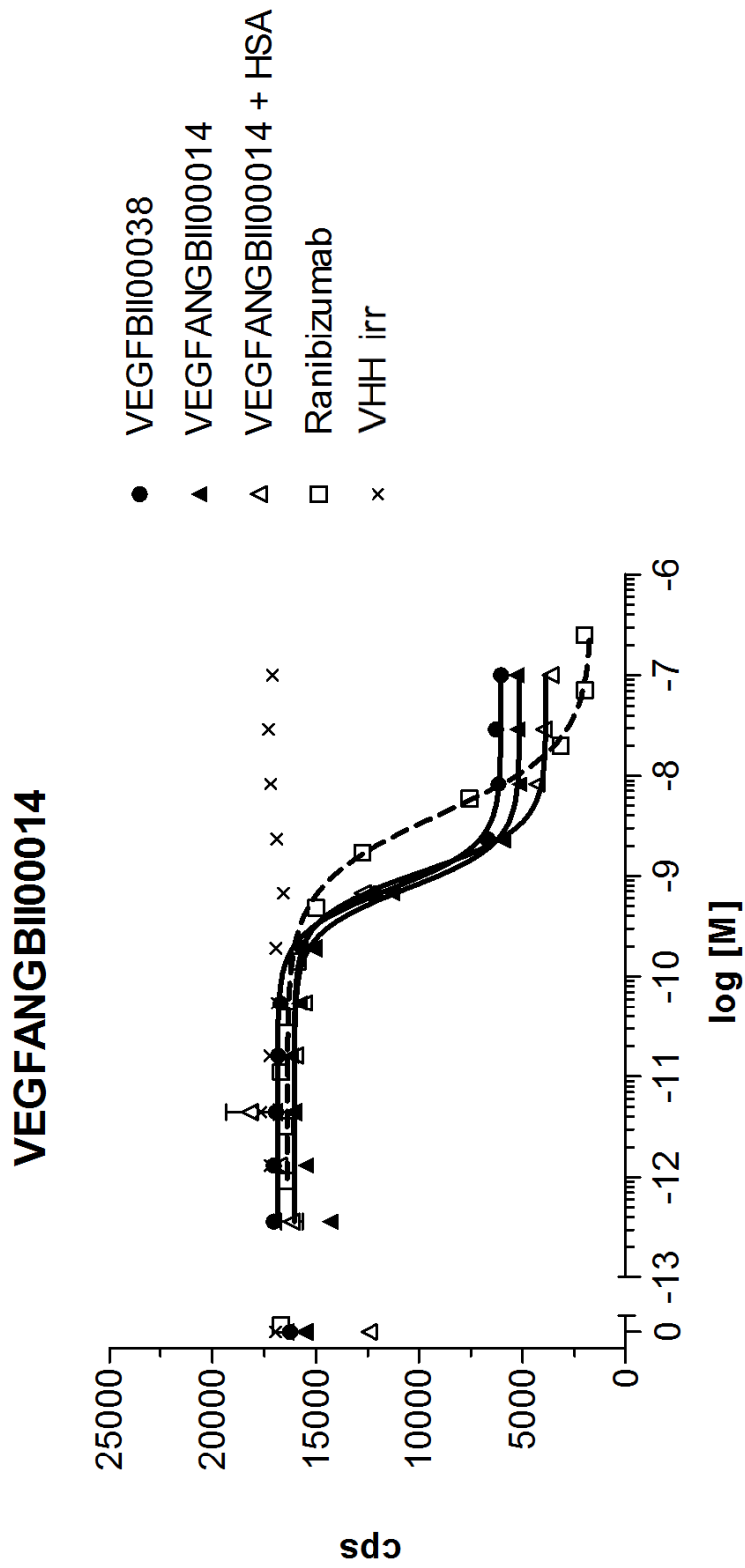


Figura 28-1A

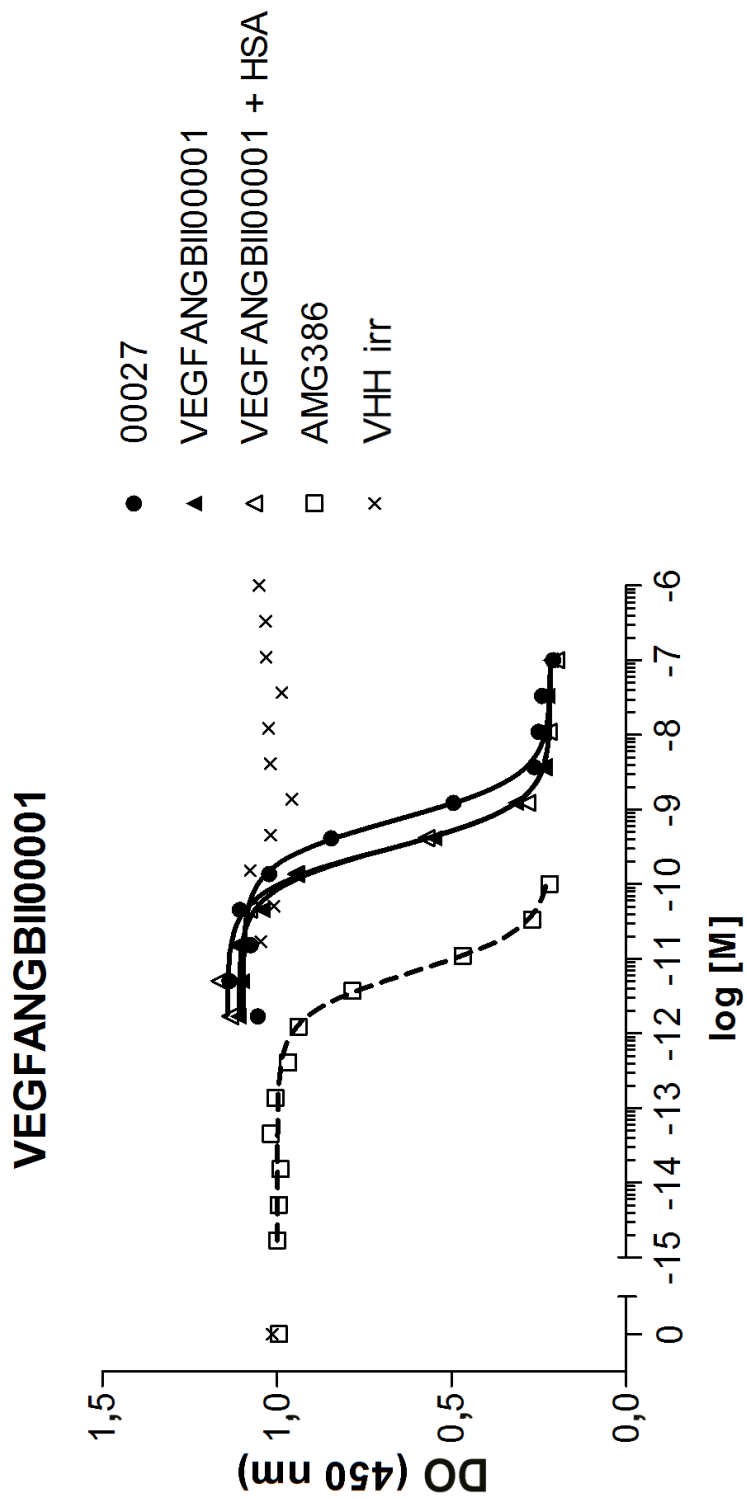


Figura 28-1B

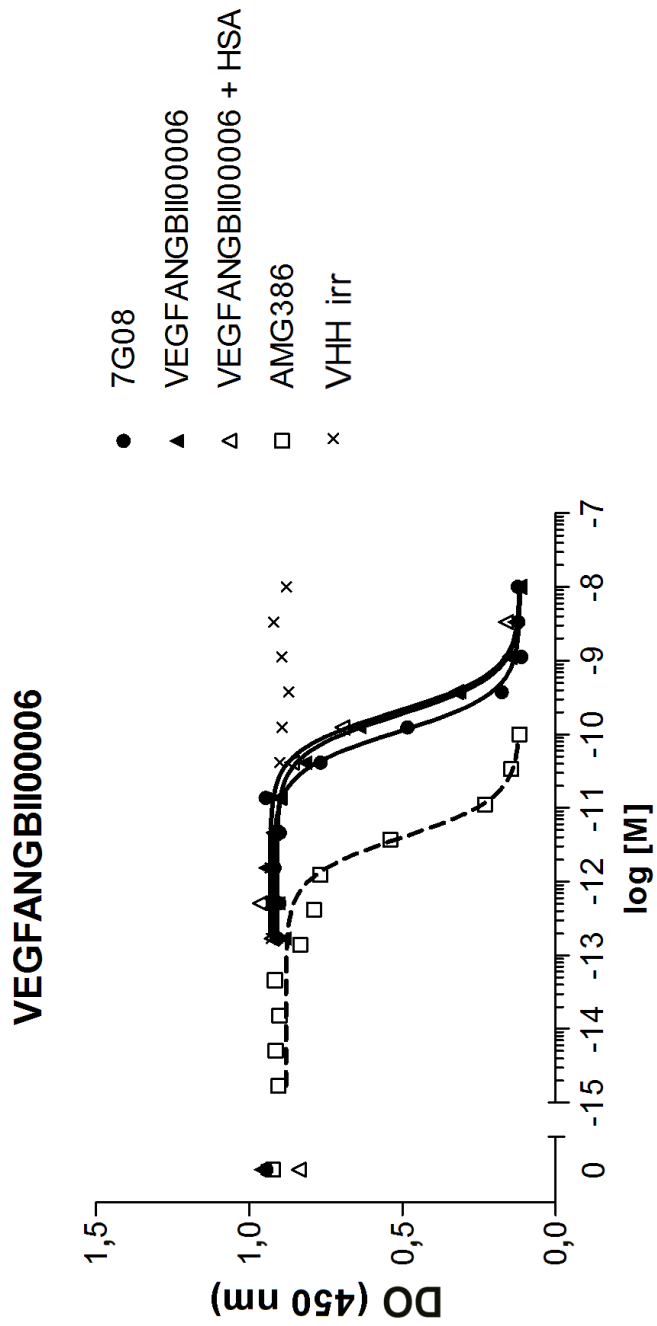


Figura 28-1C

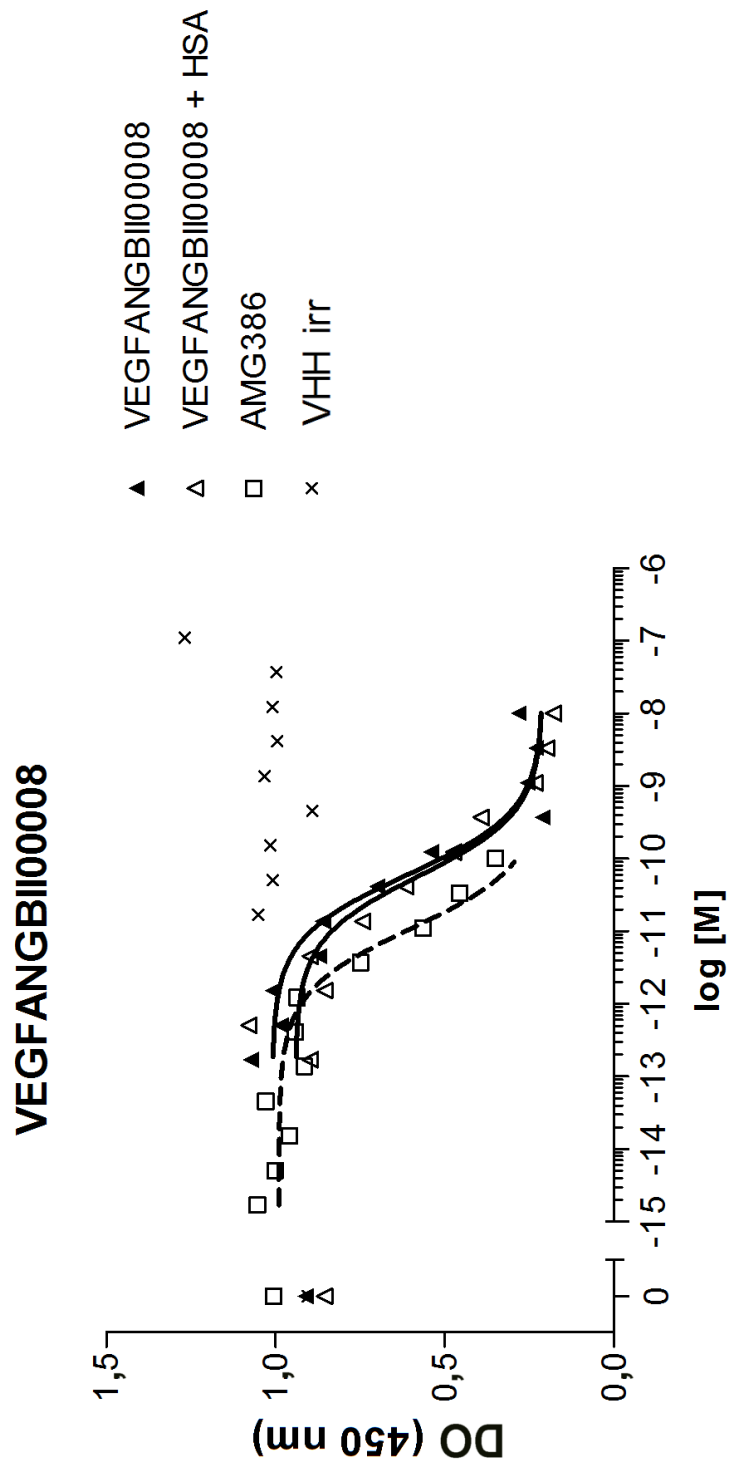


Figura 28-1D

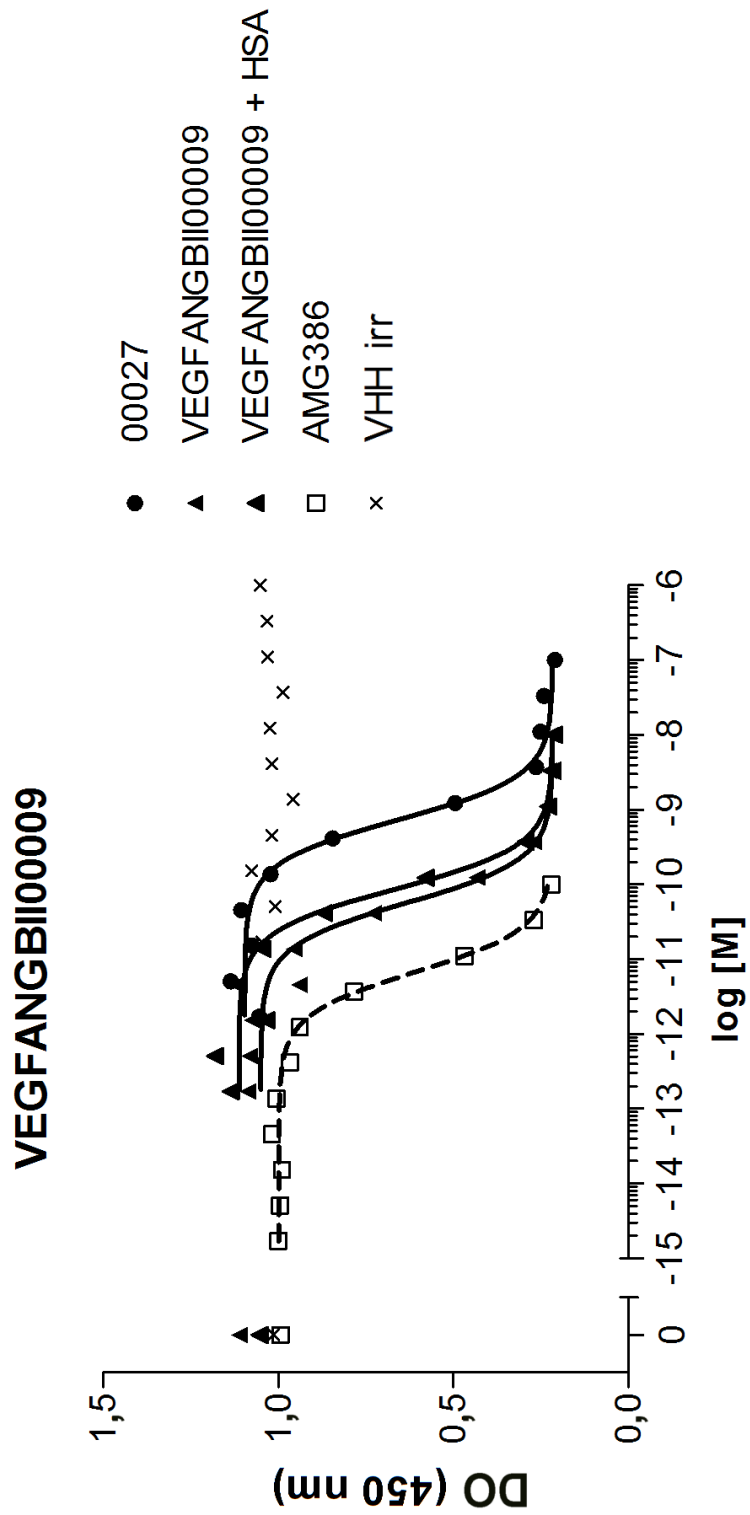


Figura 28-1E

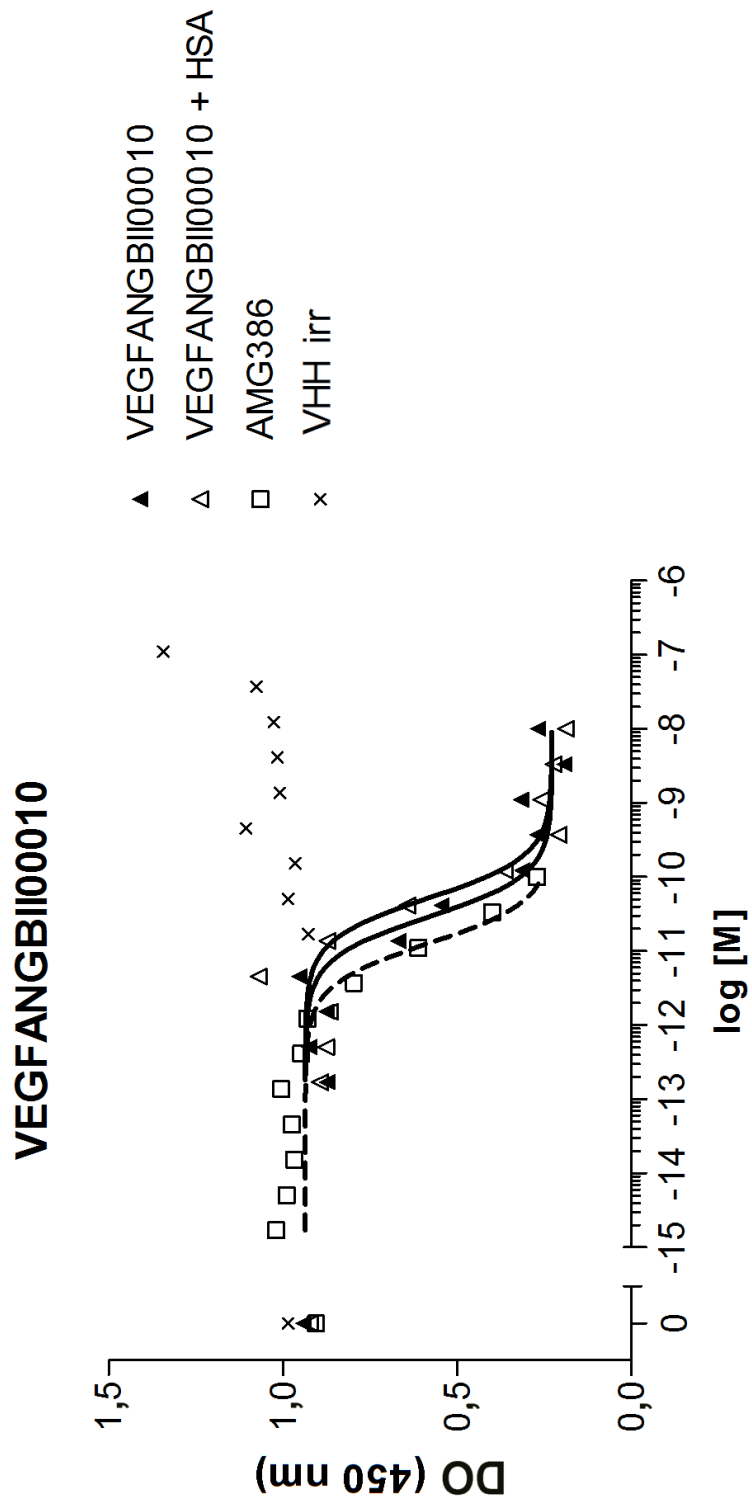


Figura 28-1F

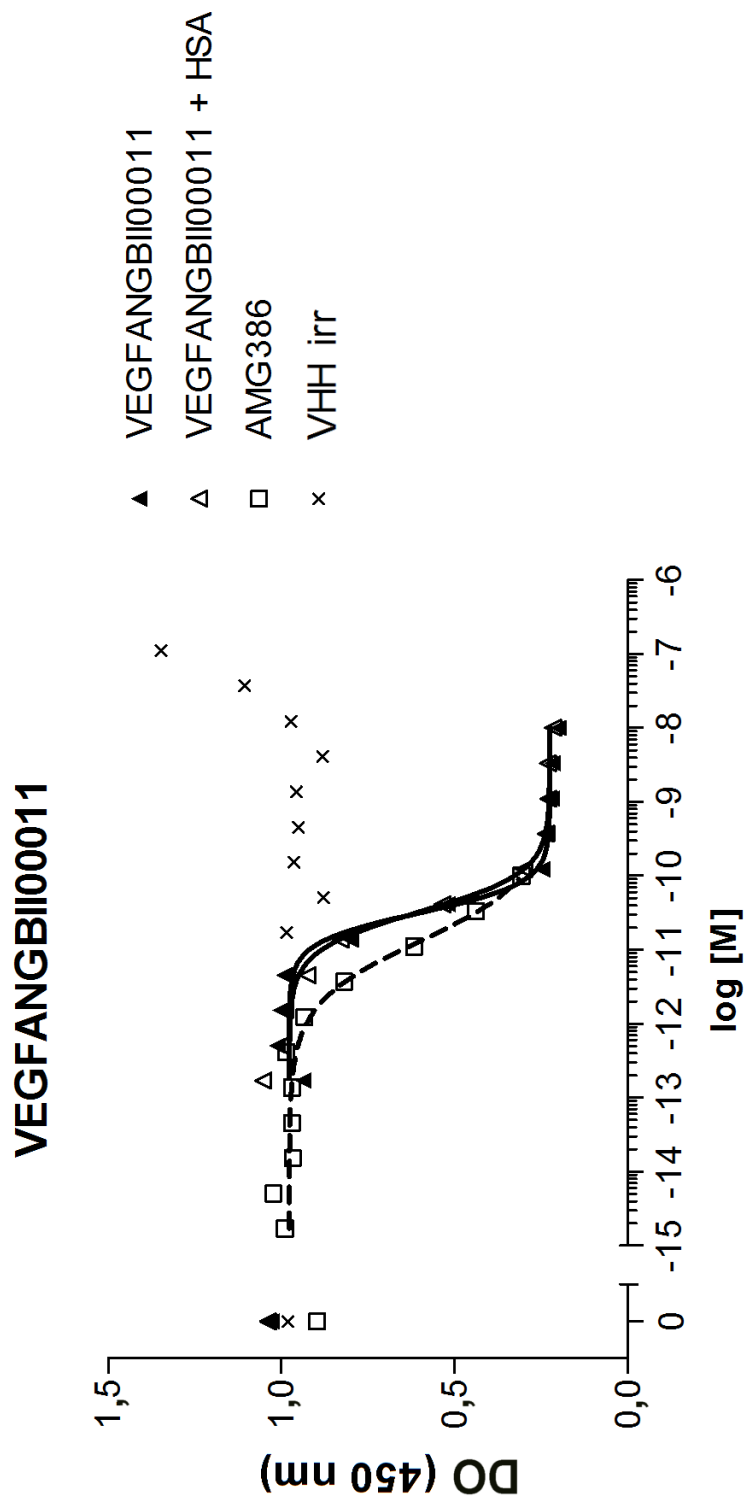


Figura 28-1G

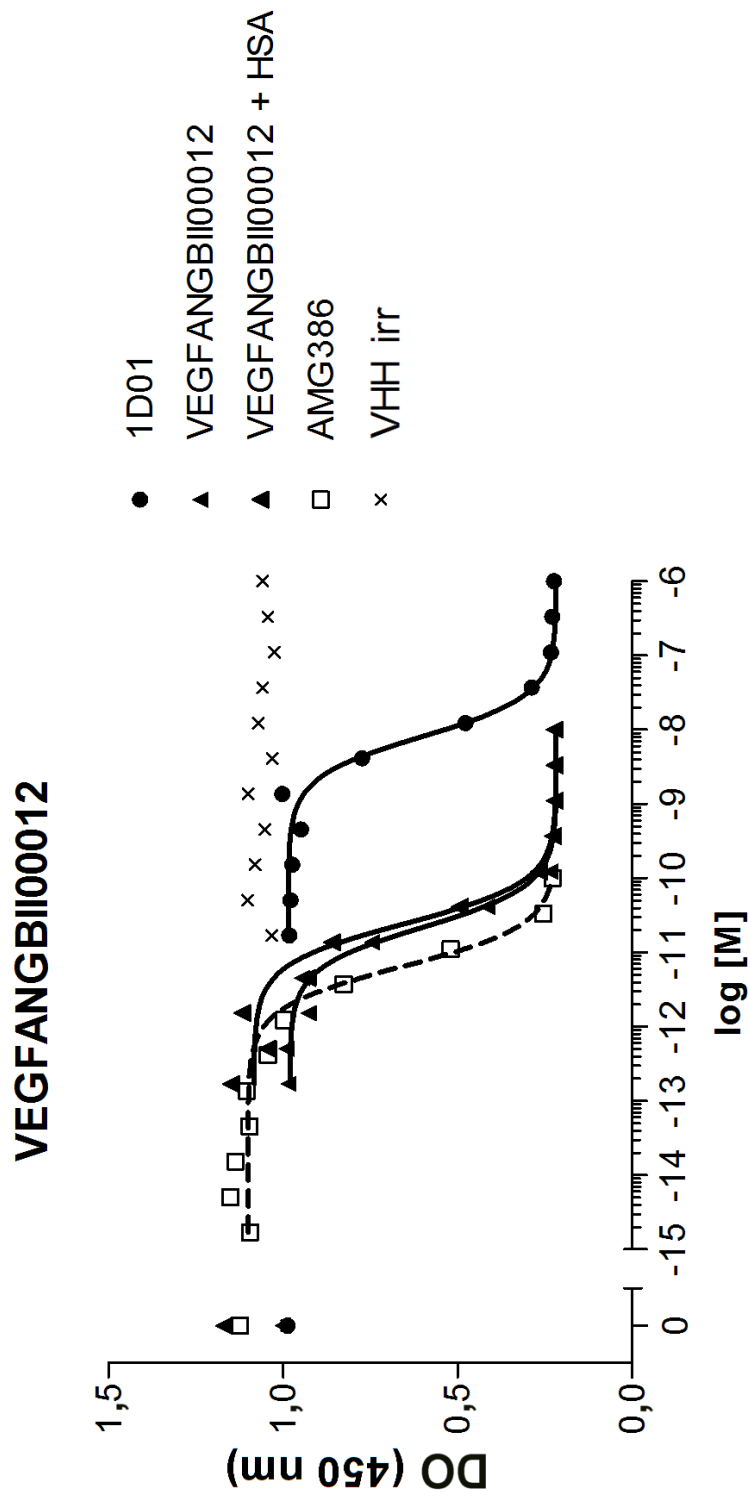


Figura 28-1H

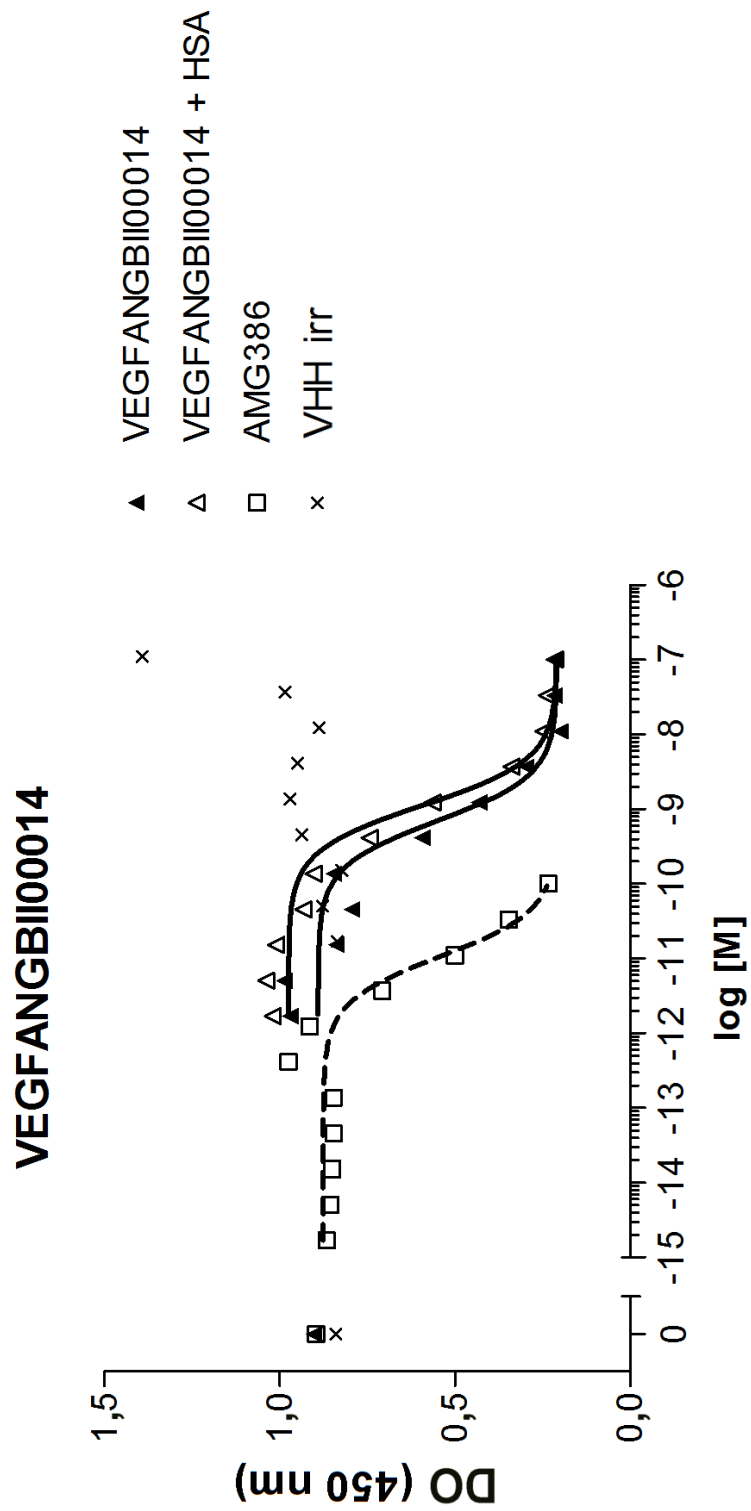


Figura 28-2A

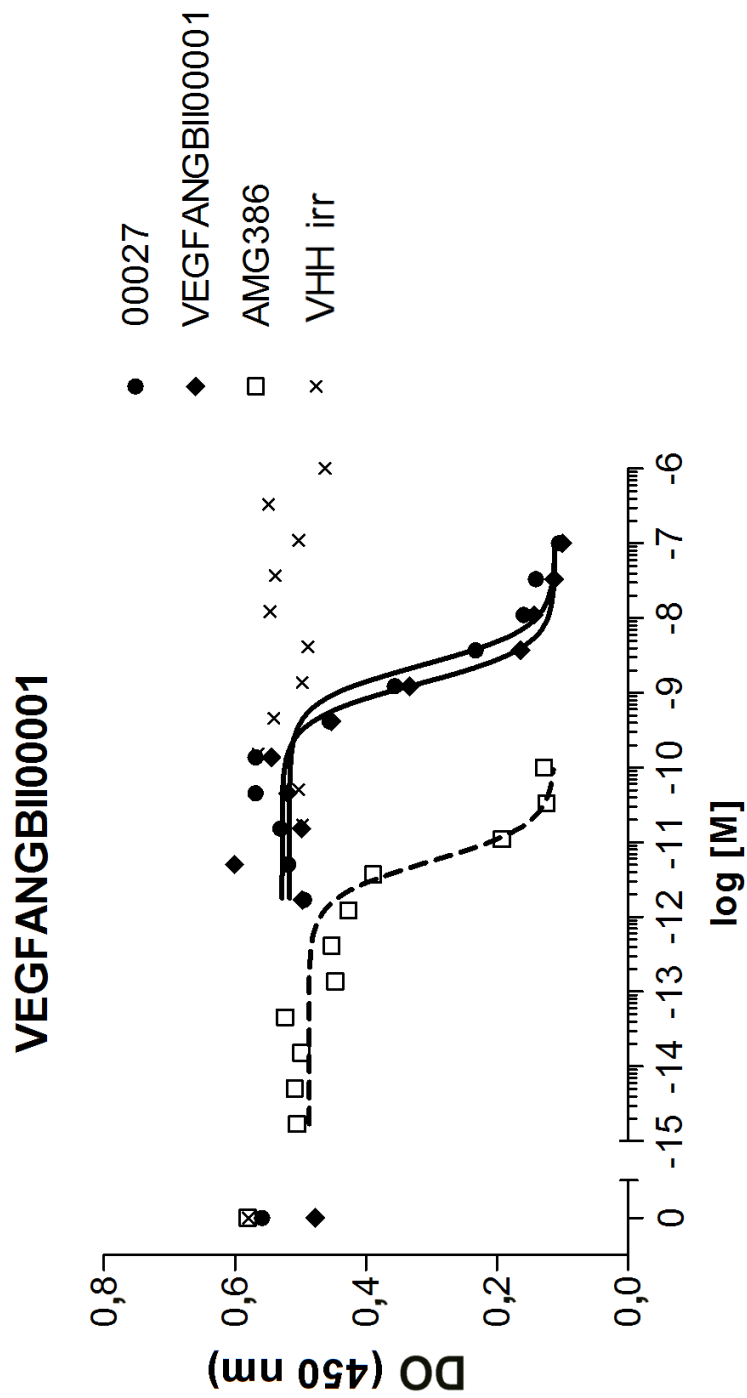


Figura 28-2B

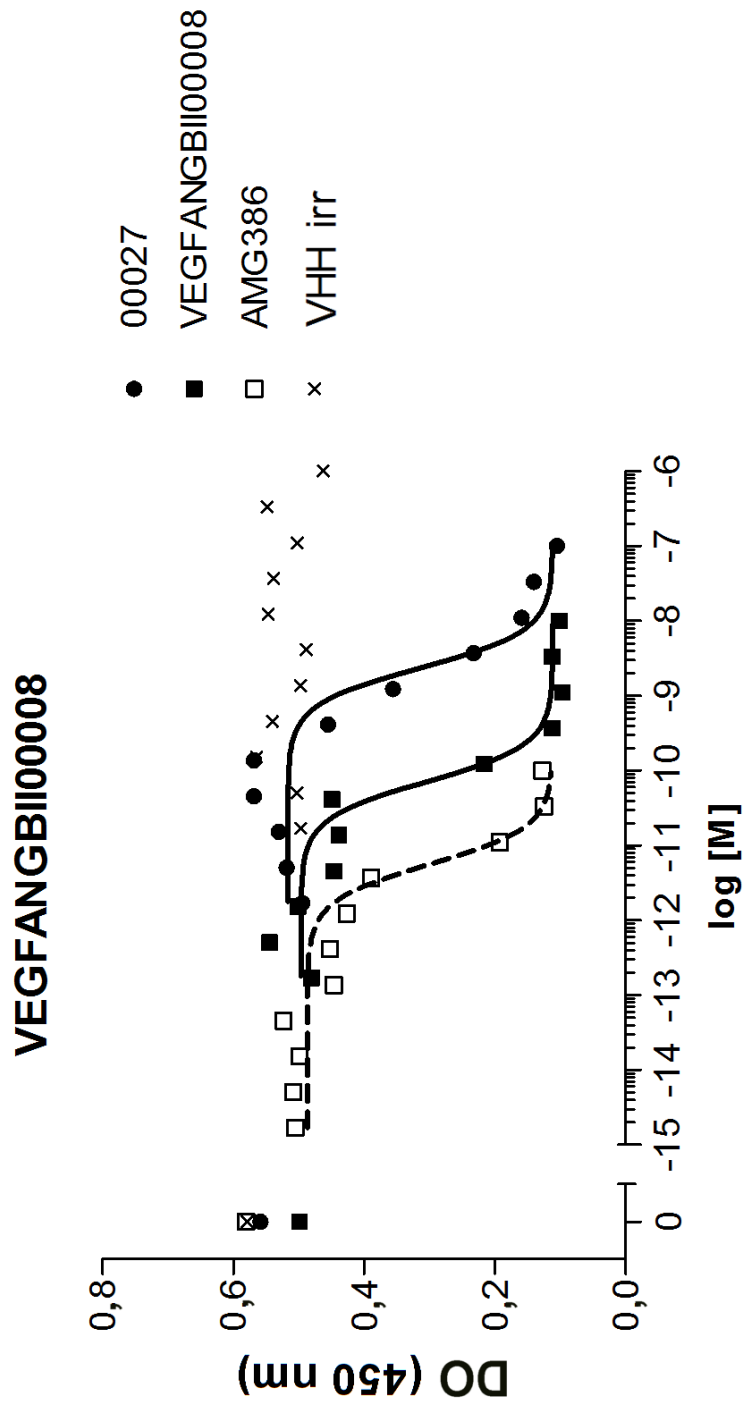


Figura 28-2C

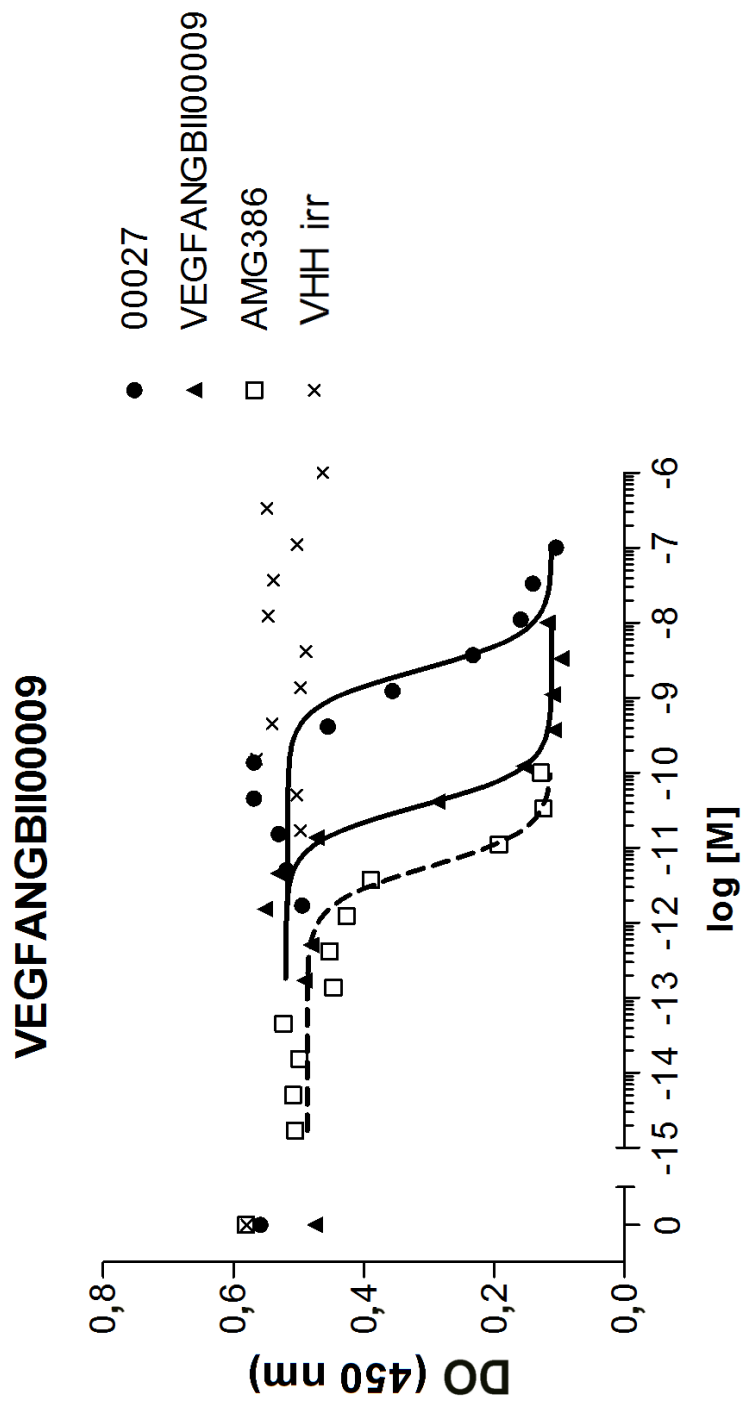


Figura 28-2D

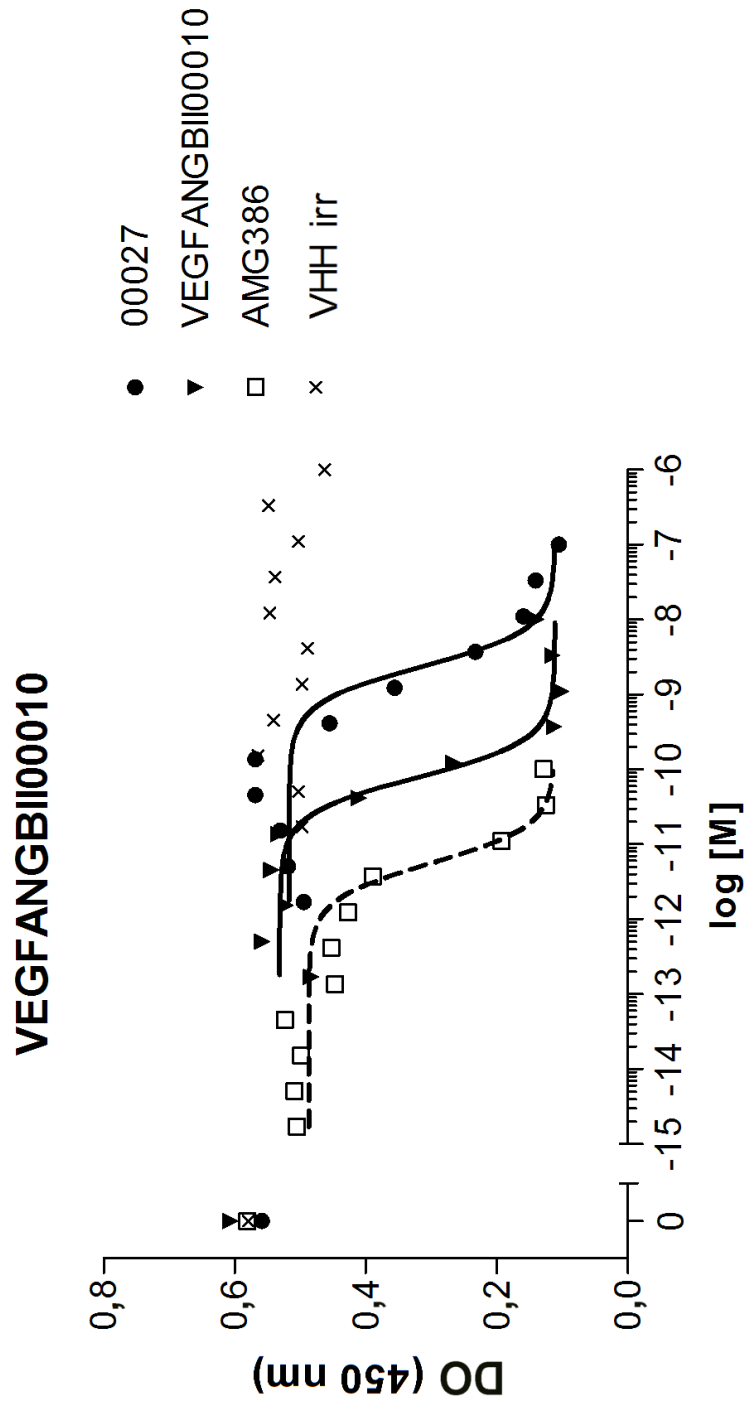


Figura 28-2E

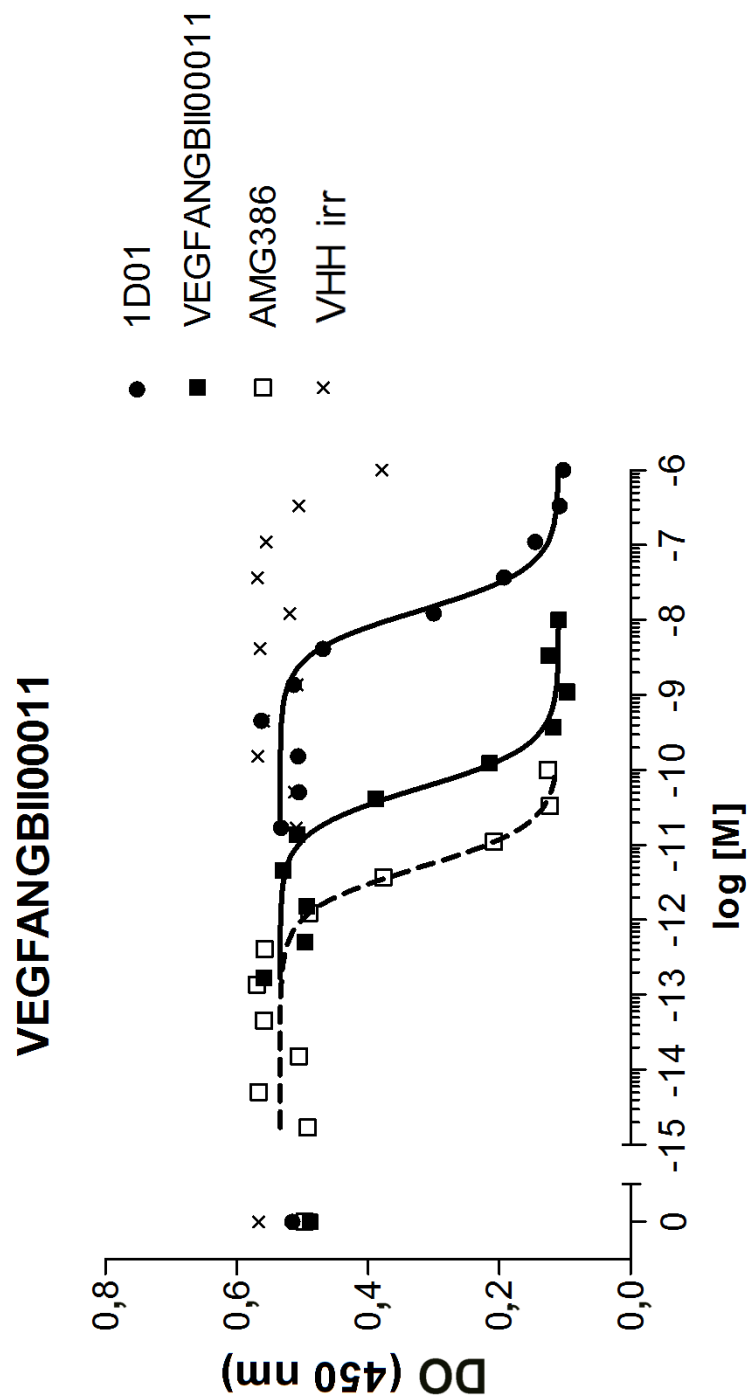


Figura 28-2F

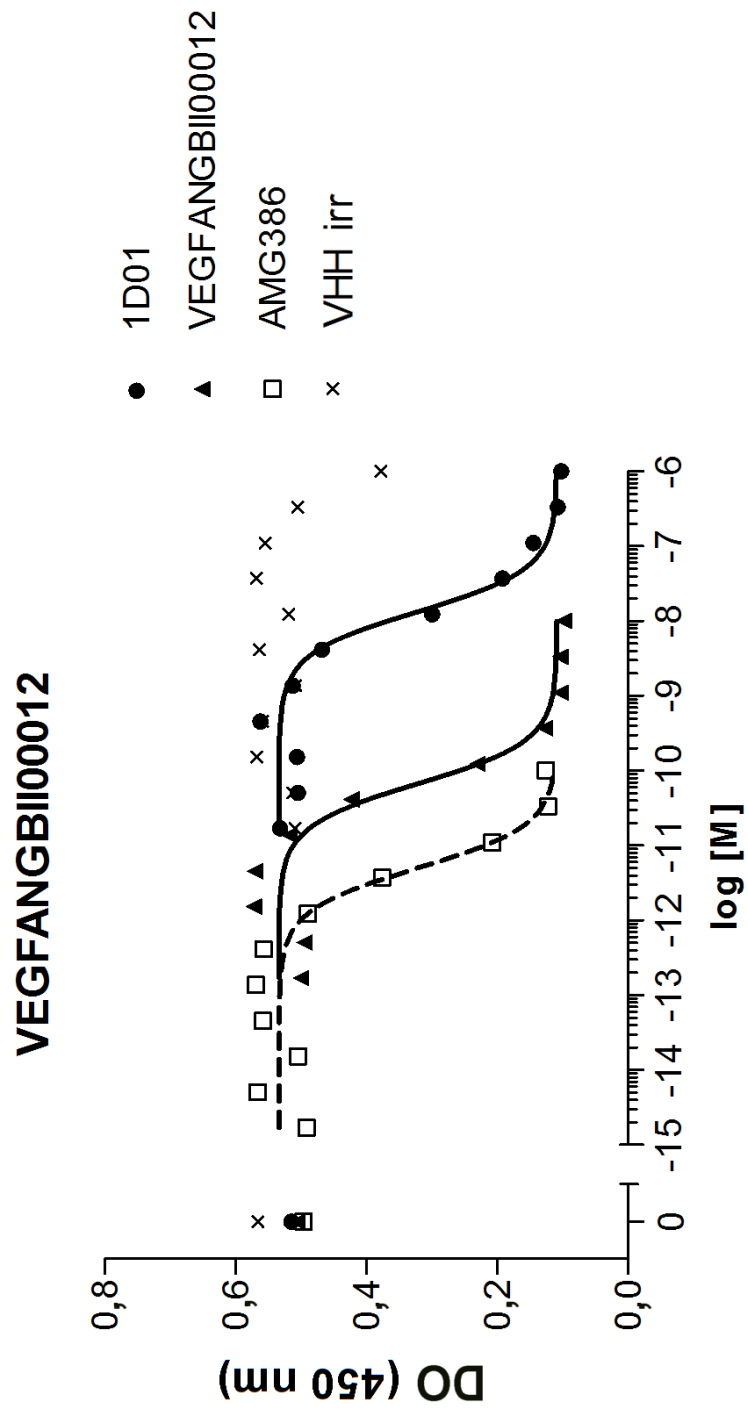


Figura 28-2G

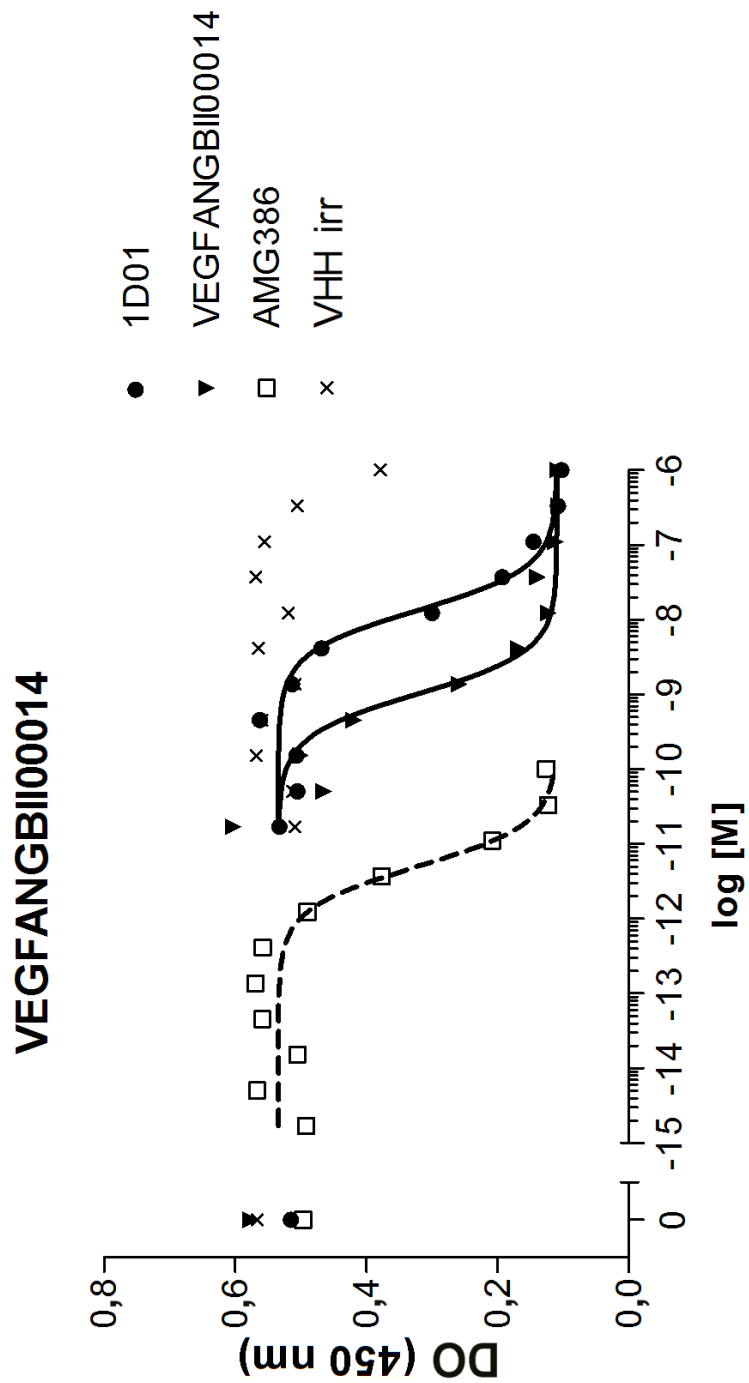


Figura 28-3A

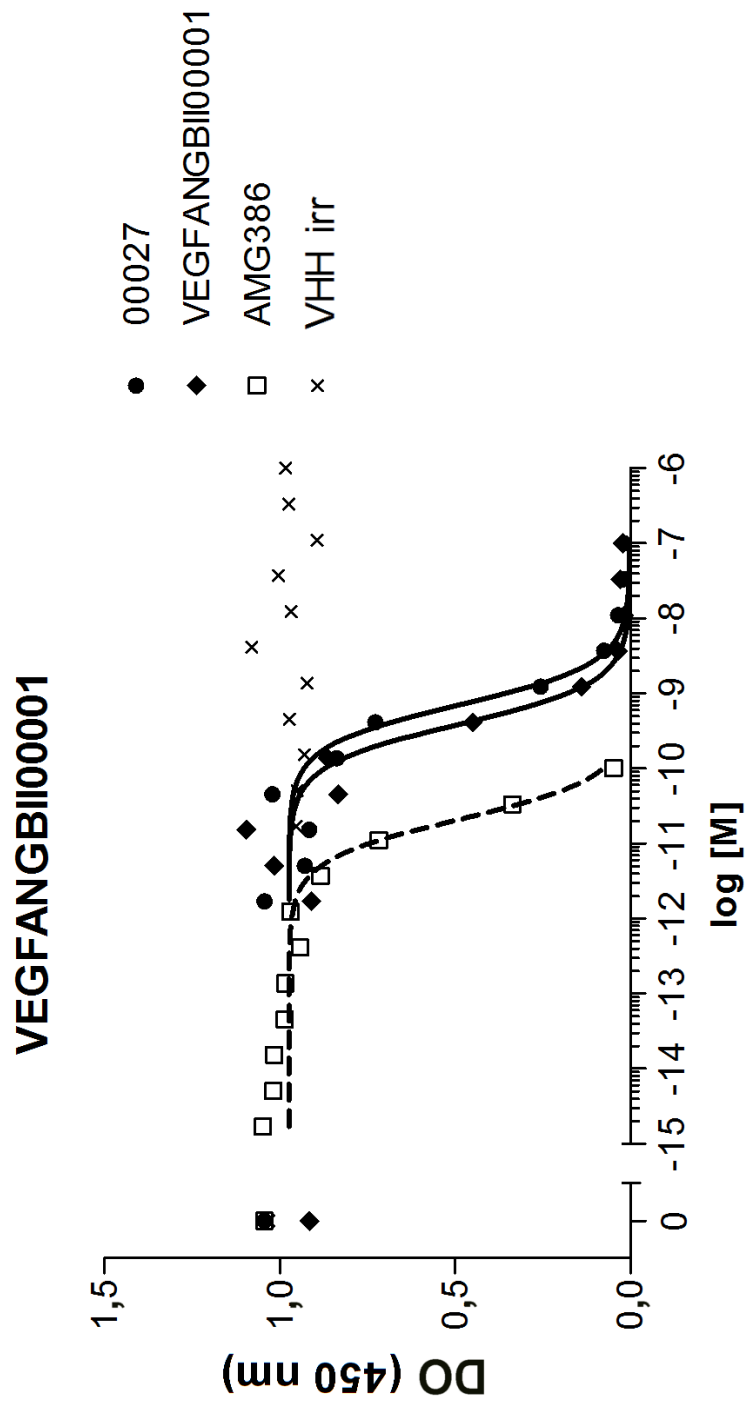


Figura 28-3B

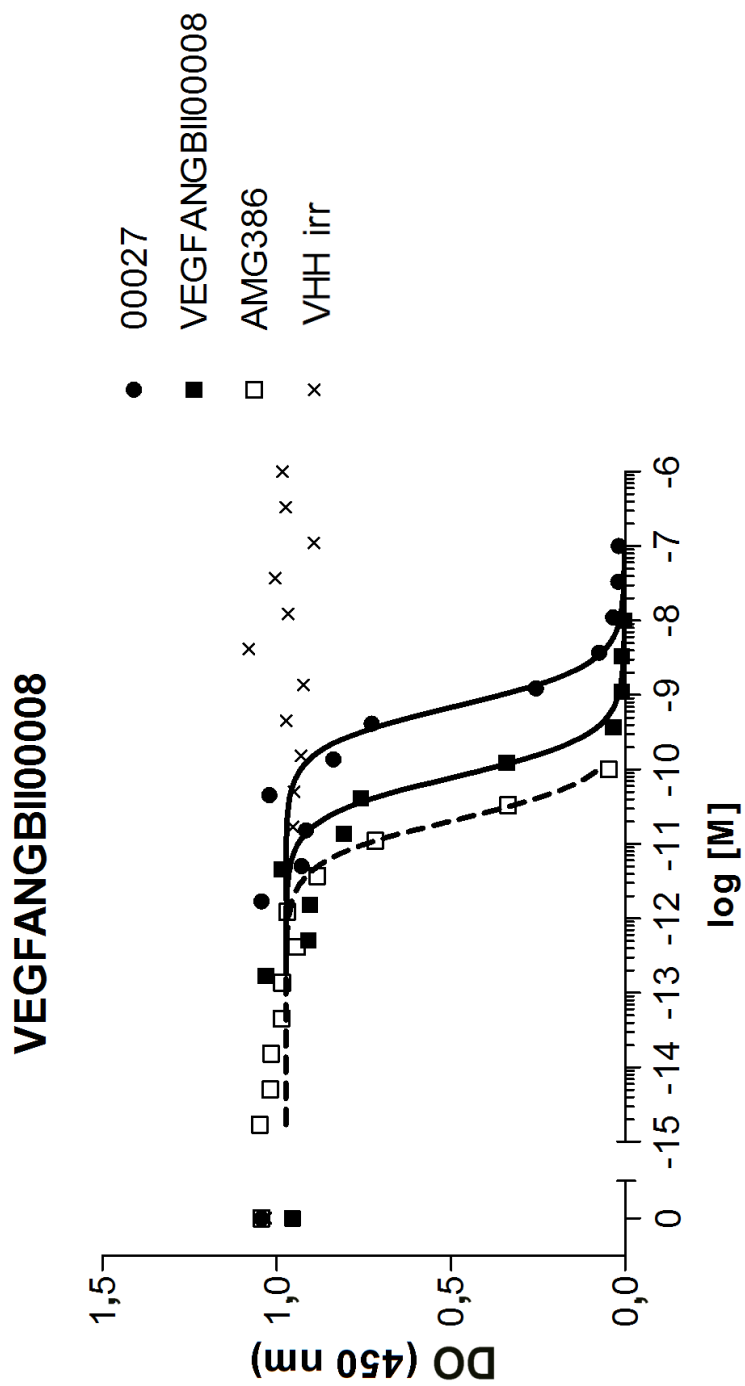


Figura 28-3C

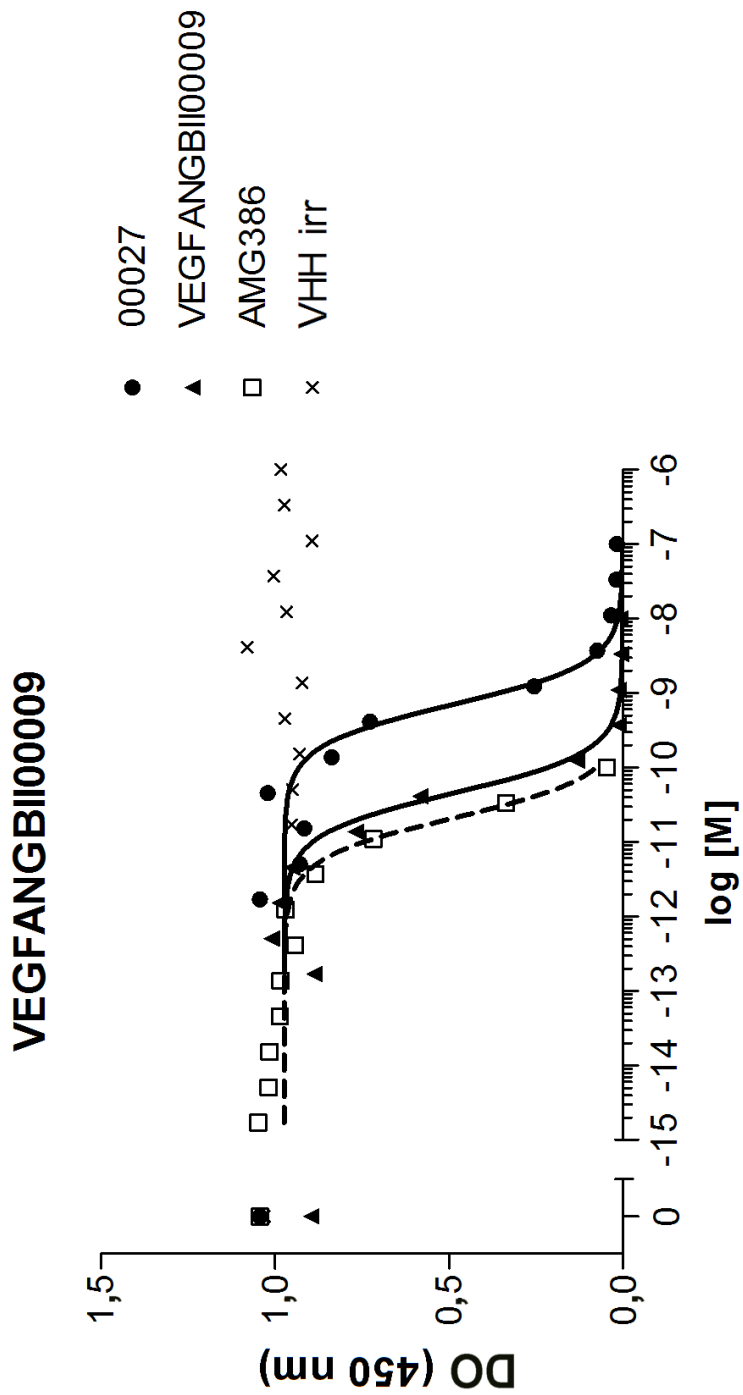


Figura 28-3D

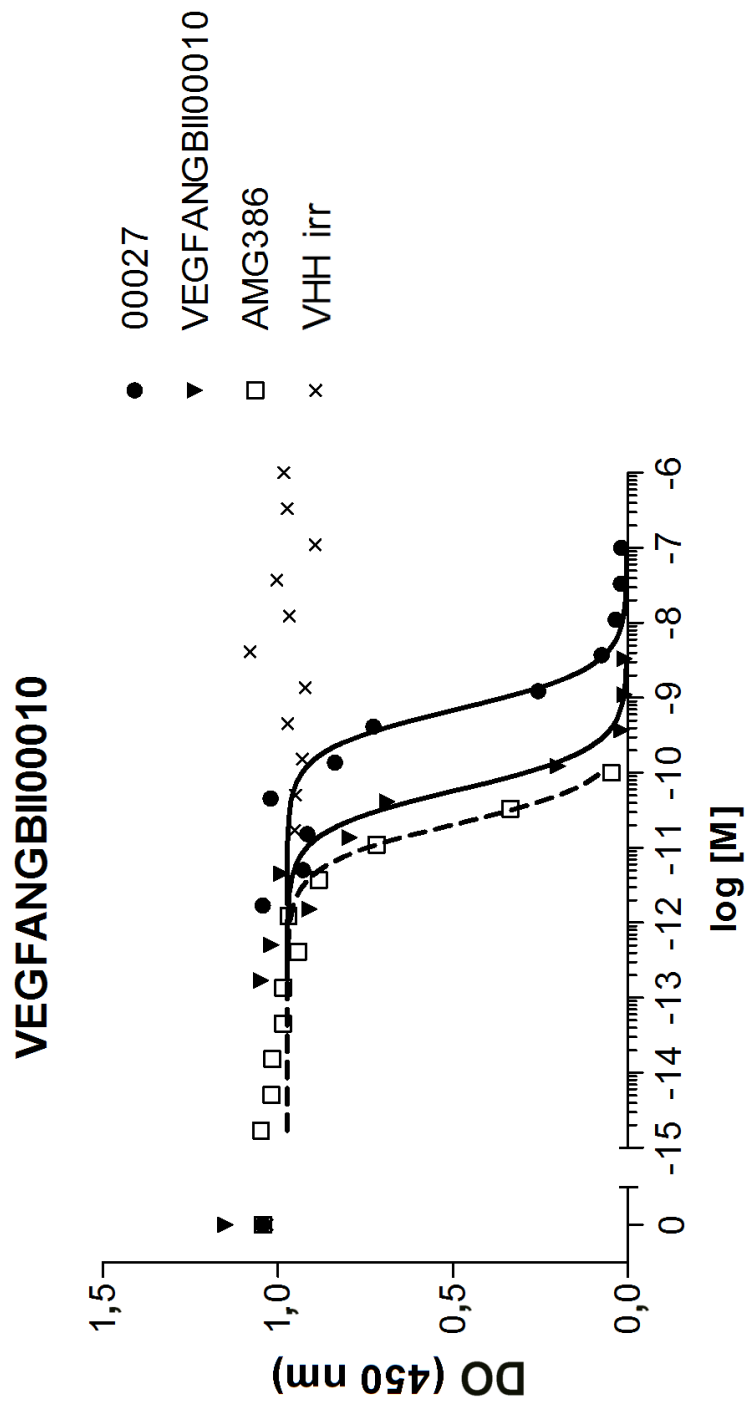


Figura 28-3E

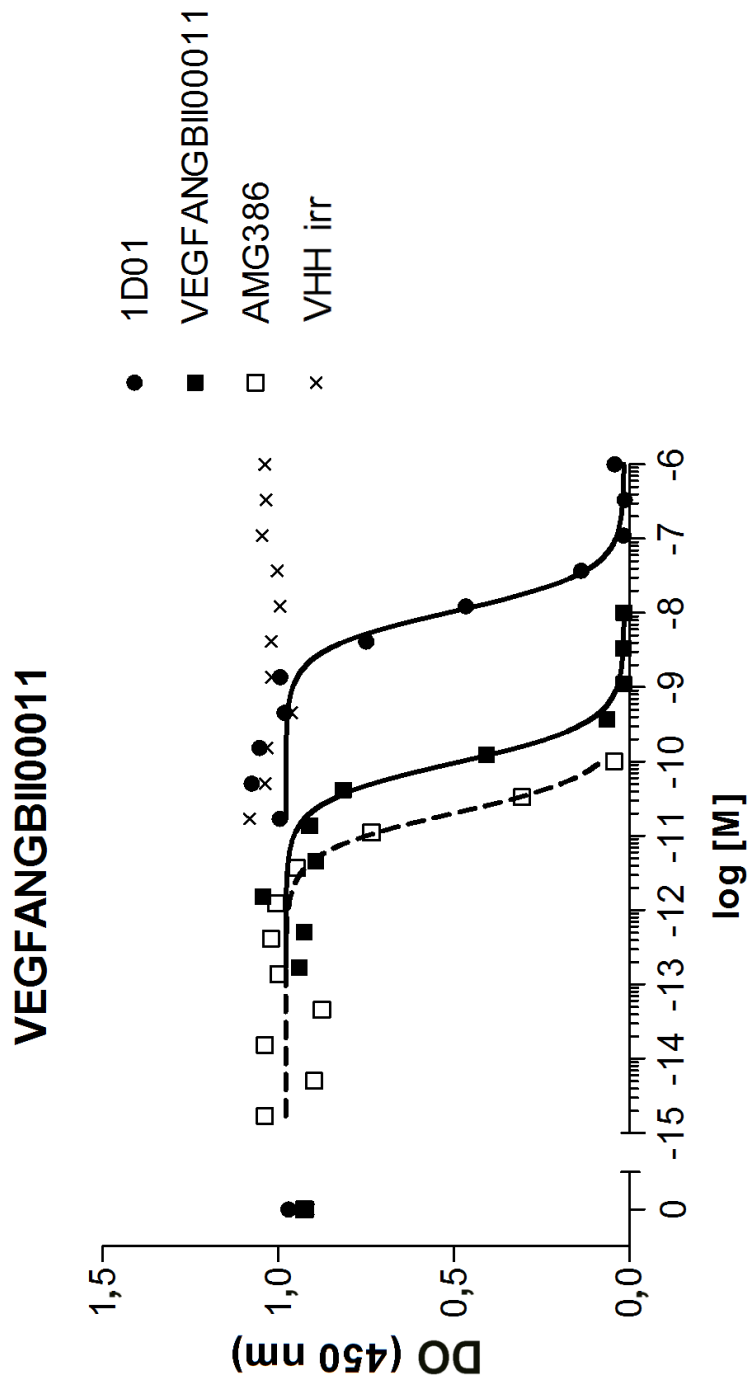


Figura 28-3F

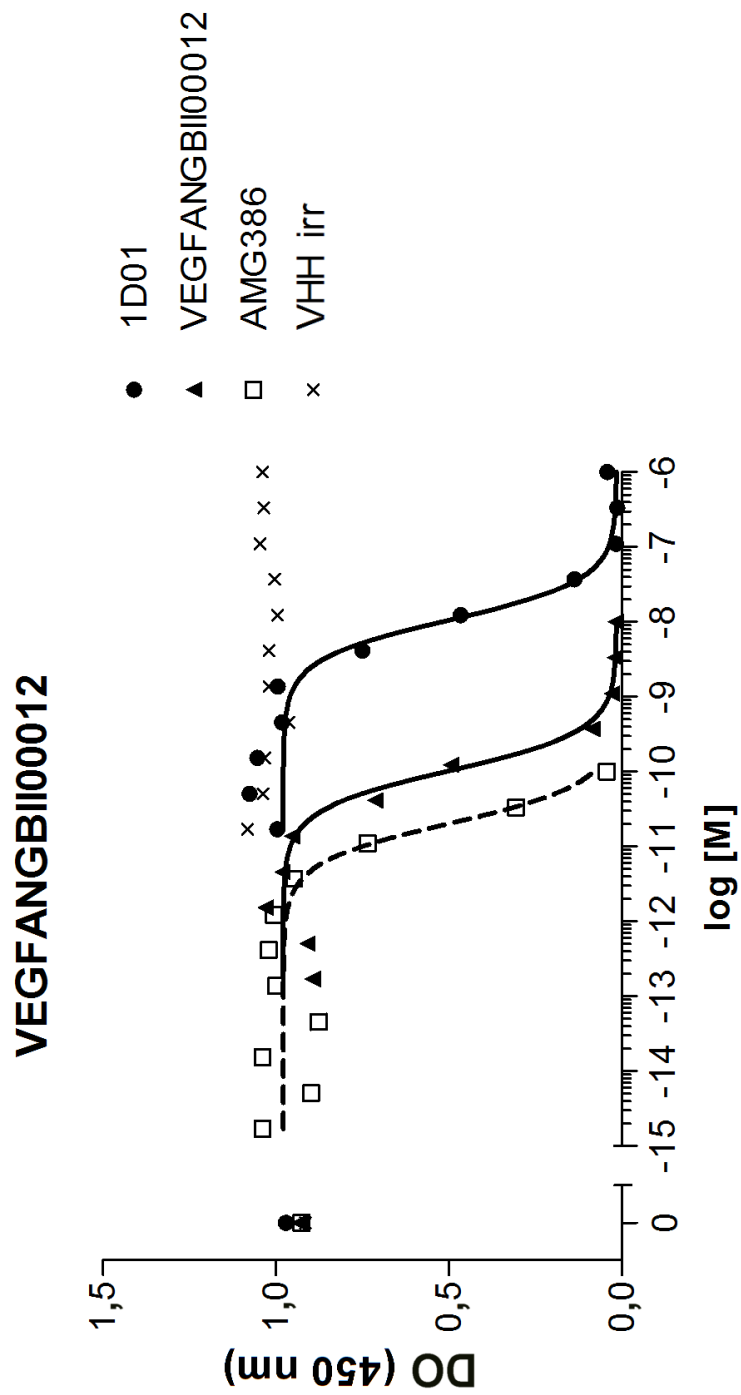


Figura 28-3G

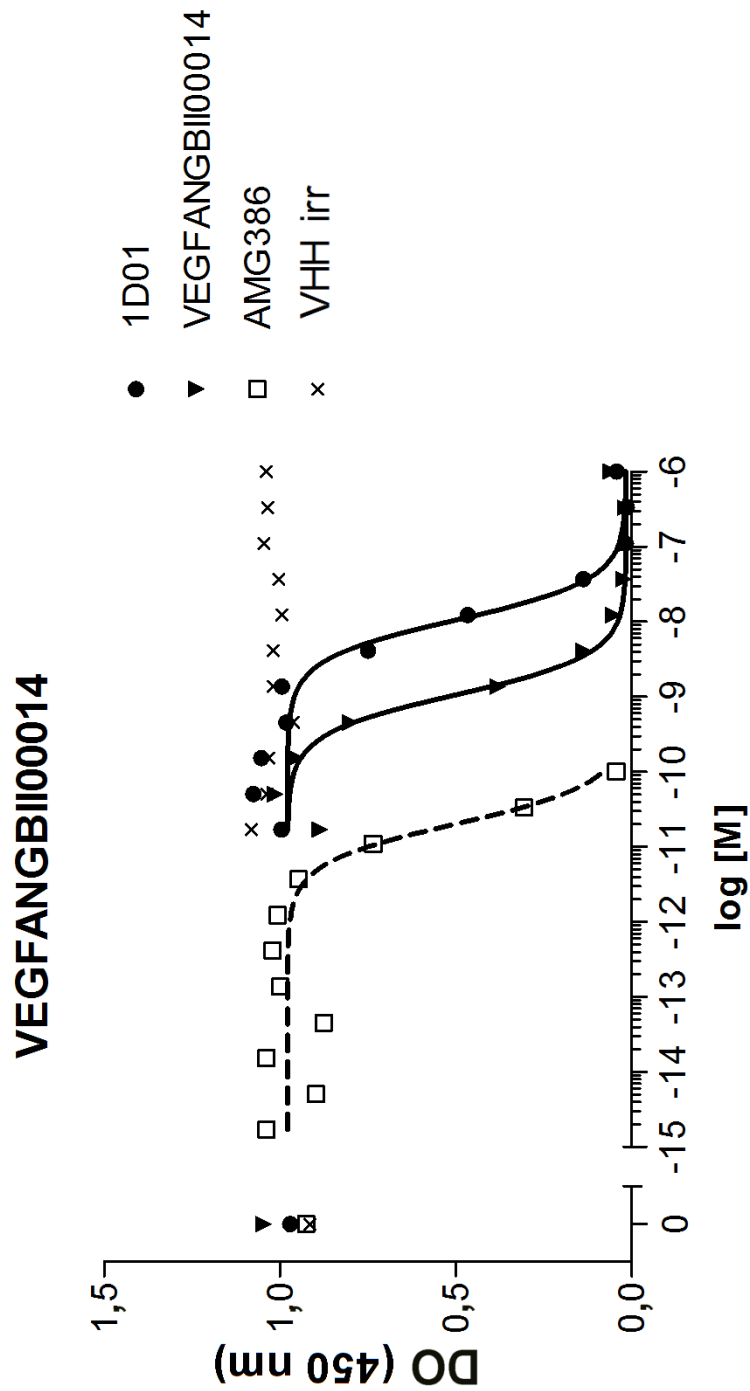


Figura 29A

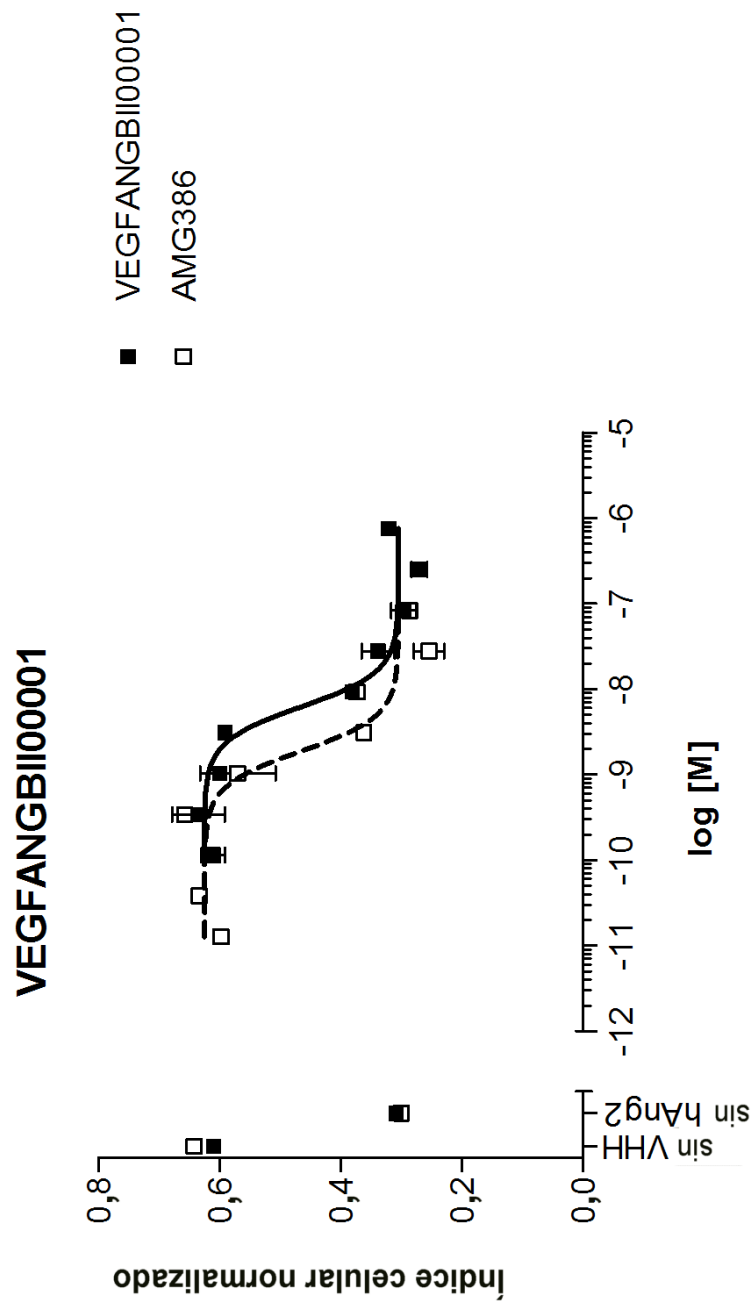


Figura 29B

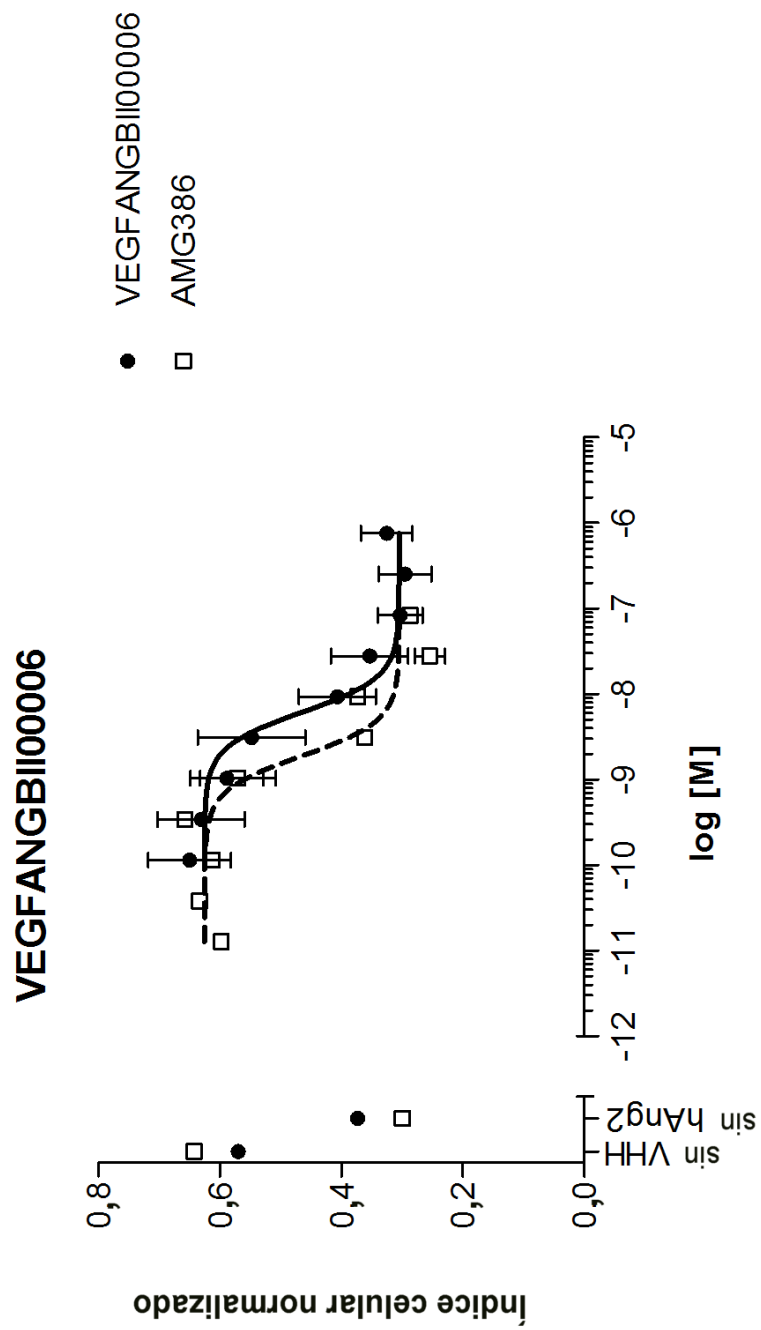


Figura 29C

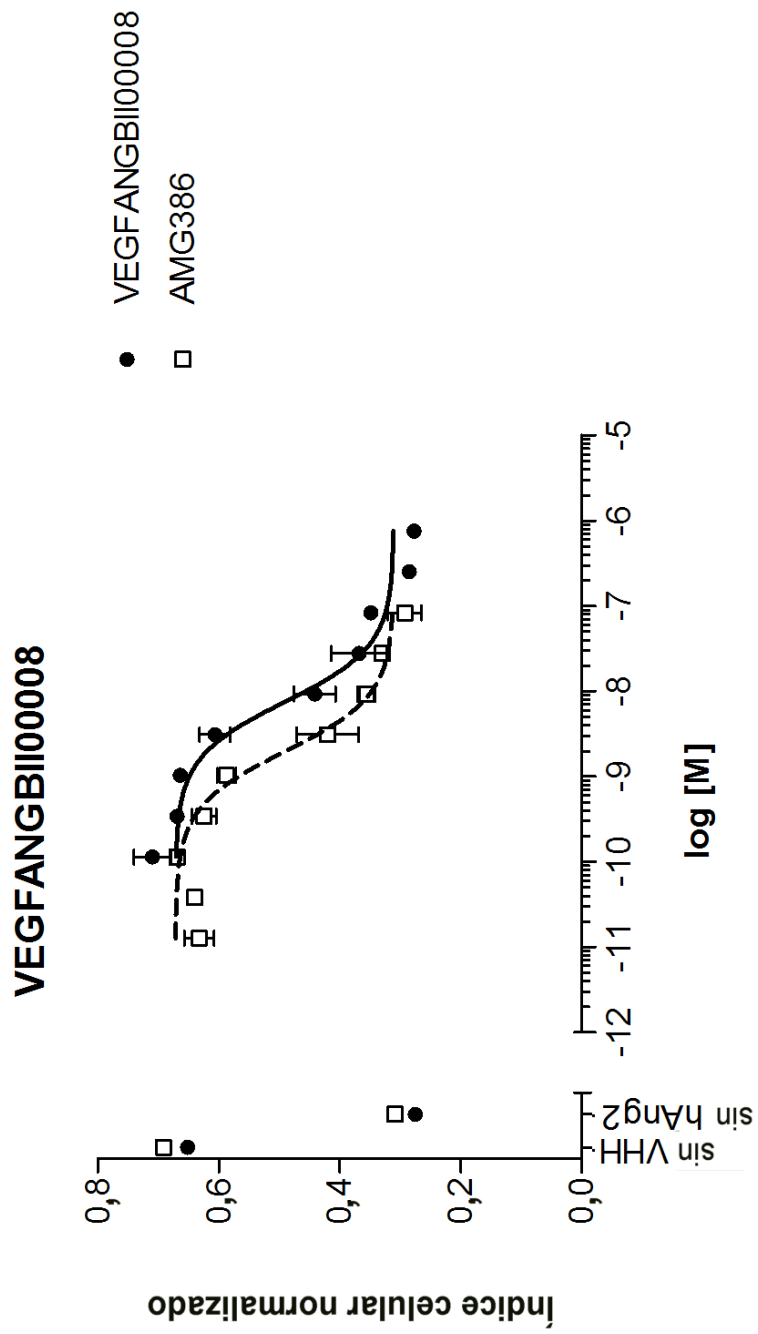


Figura 29D

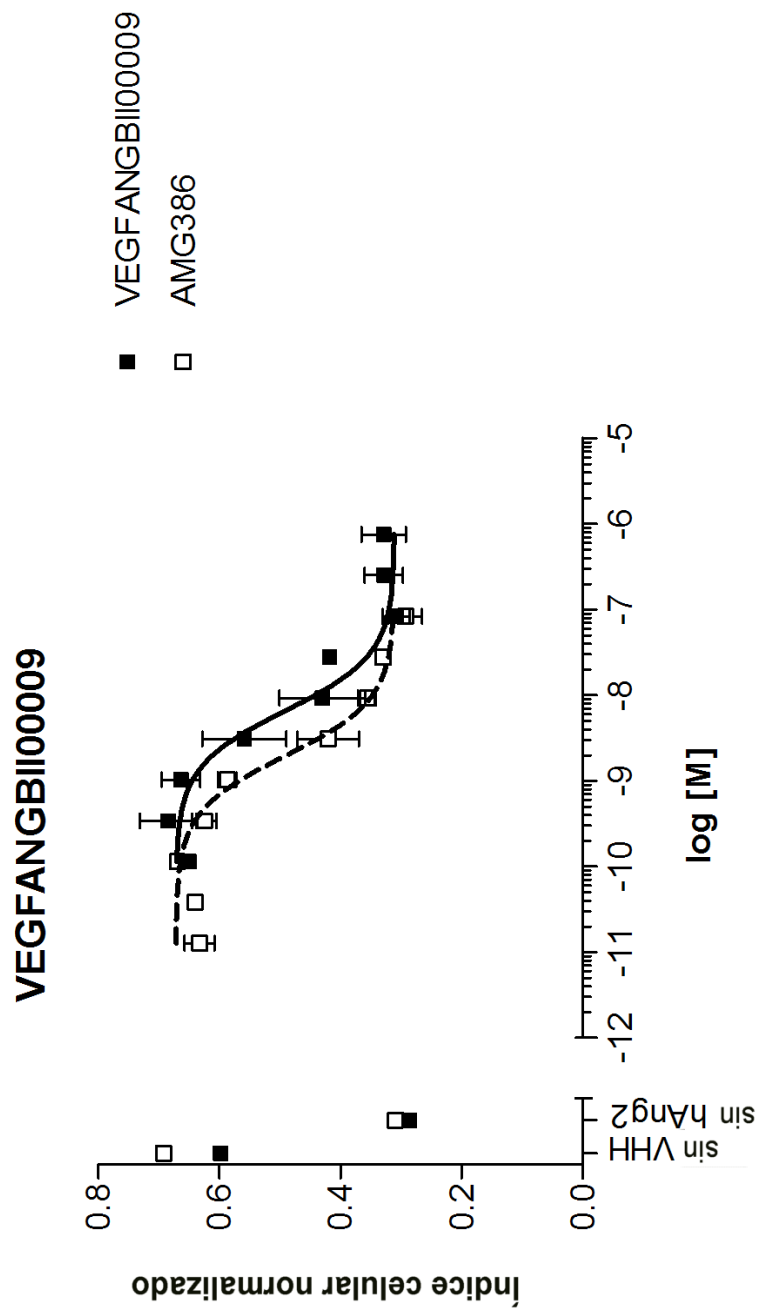


Figura 29E

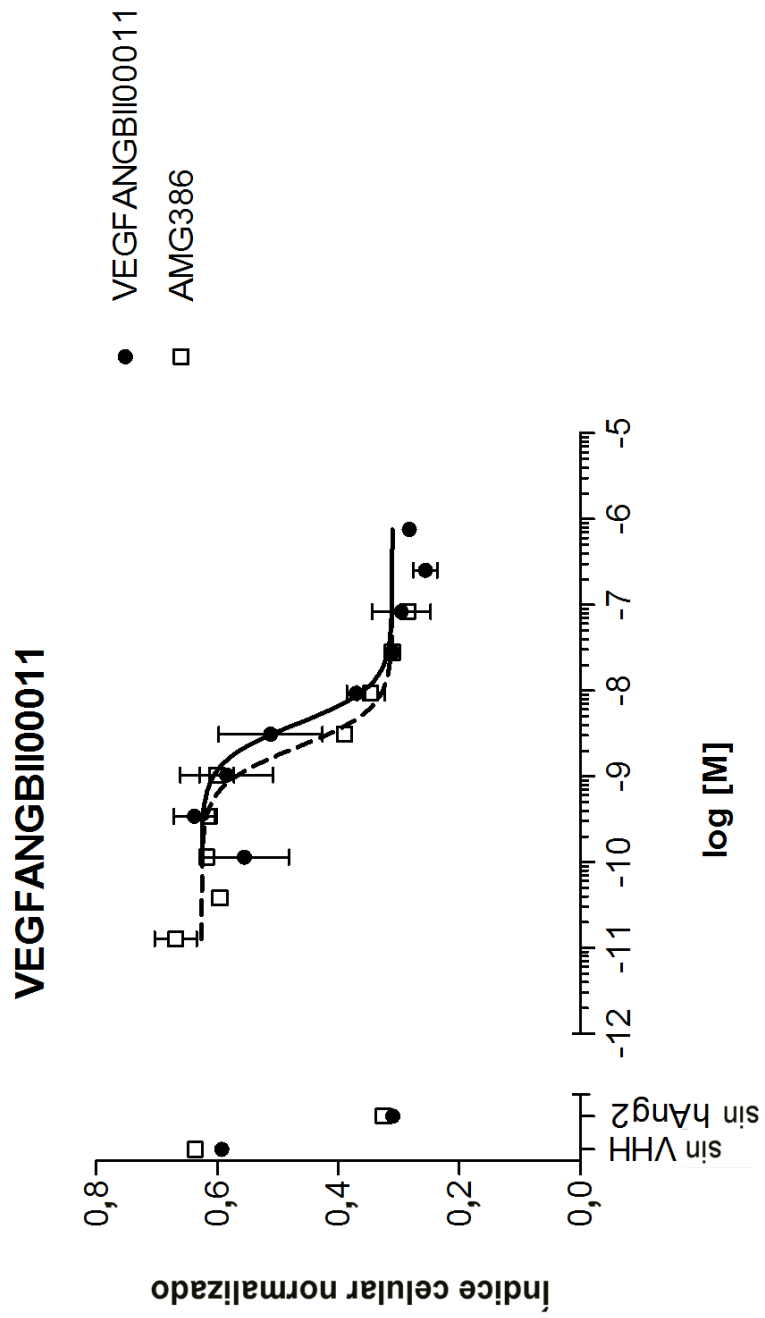


Figura 29F

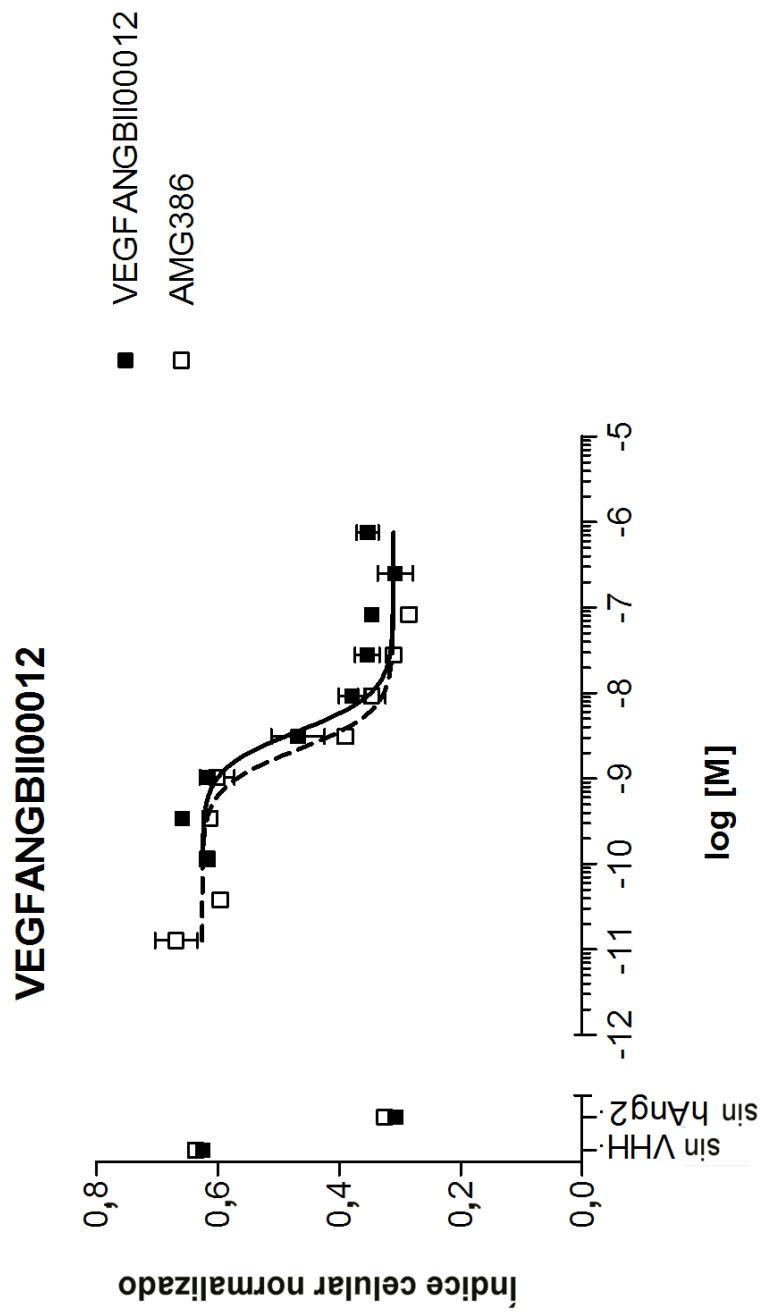


Figura 30

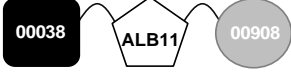



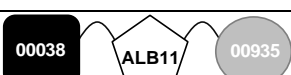
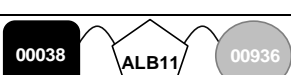
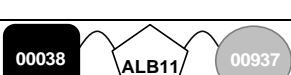
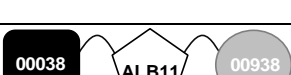






ID VHH	Formato	Descripción
VEGFANGBII00015		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00908
VEGFANGBII00016		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00932
VEGFANGBII00017		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00933
VEGFANGBII00018		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00934
VEGFANGBII00019		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00935
VEGFANGBII00020		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00936
VEGFANGBII00021		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00937
VEGFANGBII00022		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00938
VEGFANGBII00023		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00919-9gs-00919
VEGFANGBII00024		VEGFBII00038-9gs-00919-9gs-00919-9gs-ALB11
VEGFANGBII00025		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00921-9gs-00921
VEGFANGBII00026		VEGFBII00038-9gs-00921-9gs-00921-9gs-ALB11
VEGFANGBII00027		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00928
VEGFANGBII00028		VEGFBII00038-9gs-ALB11-9gs-00956-9gs-00956

Figura 30 (continuación)

Leyenda:
















	Descripción		Descripción
	VEGFBII00038		00937
	00908		00938
	00919		00956
	00932		00921
	00933		00928
	00934		ALB11
	00935		enlazador 9 GlySer
	00936		

Figura 31-1A

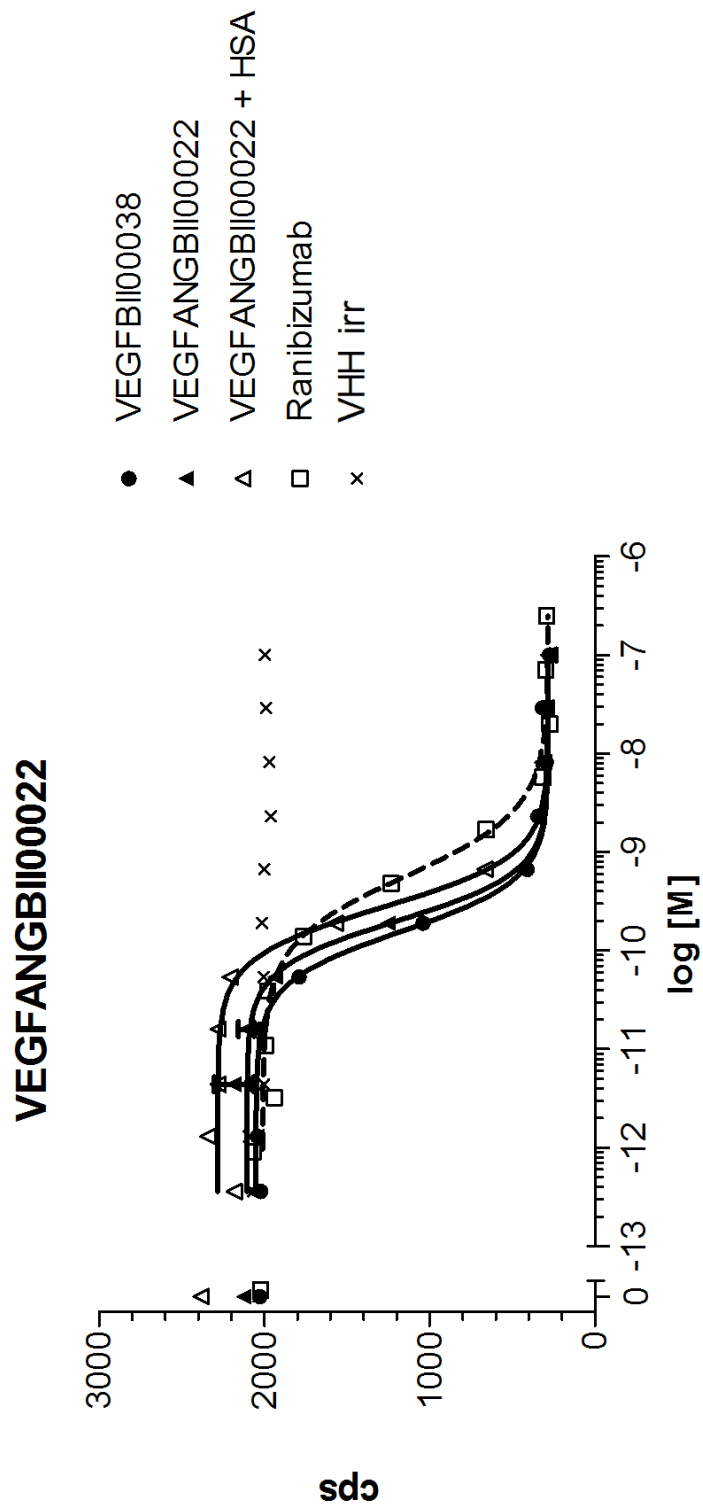


Figura 31-1B

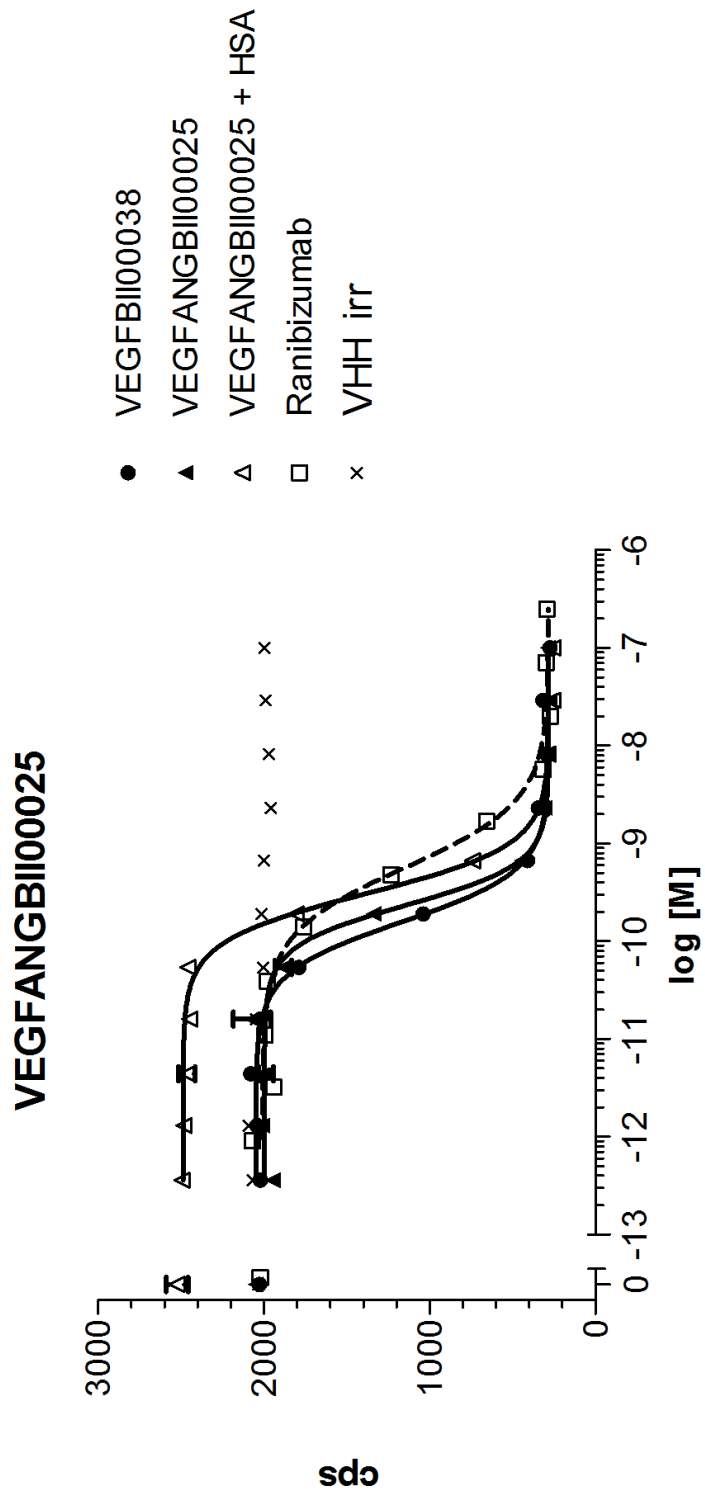


Figura 31-1C

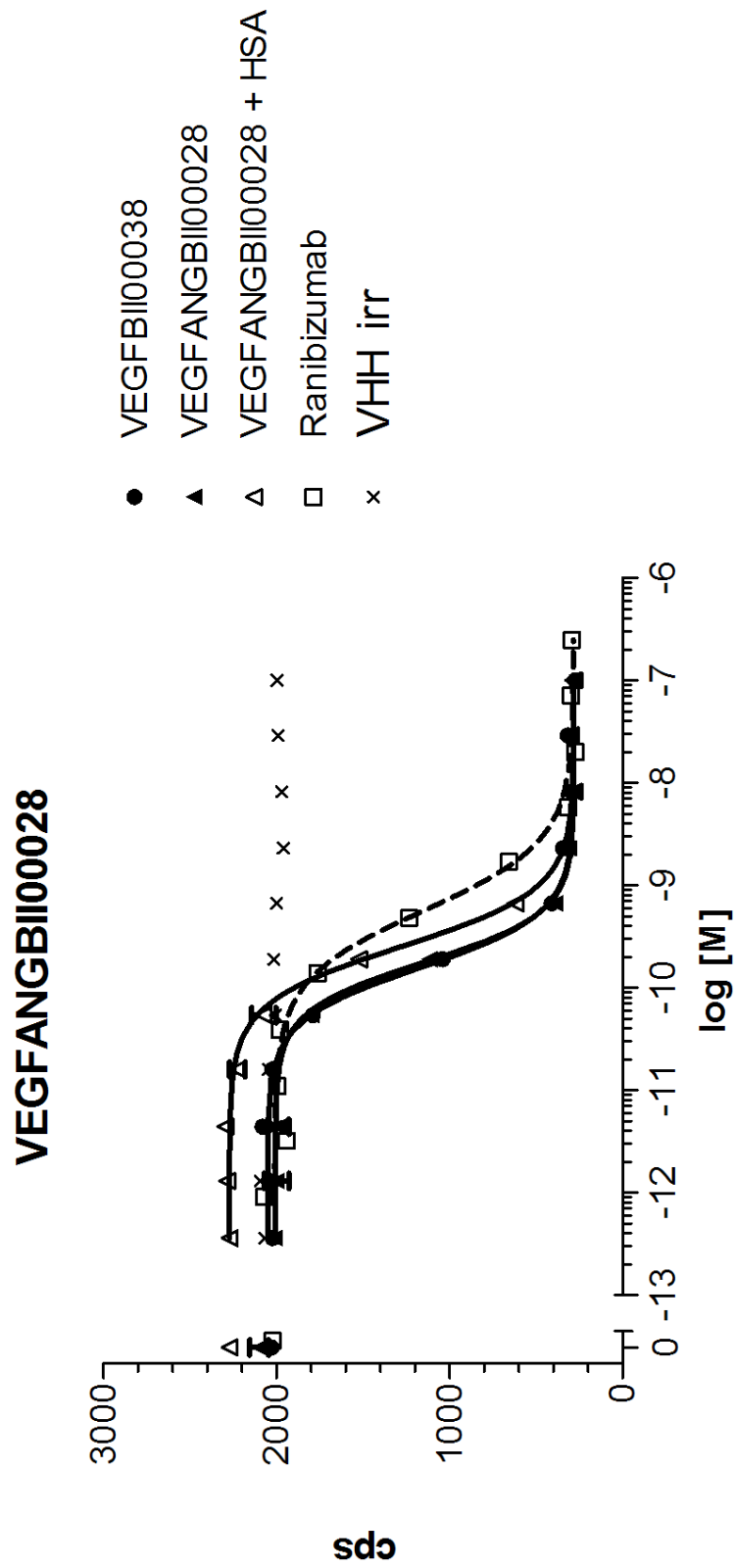


Figura 31-2A

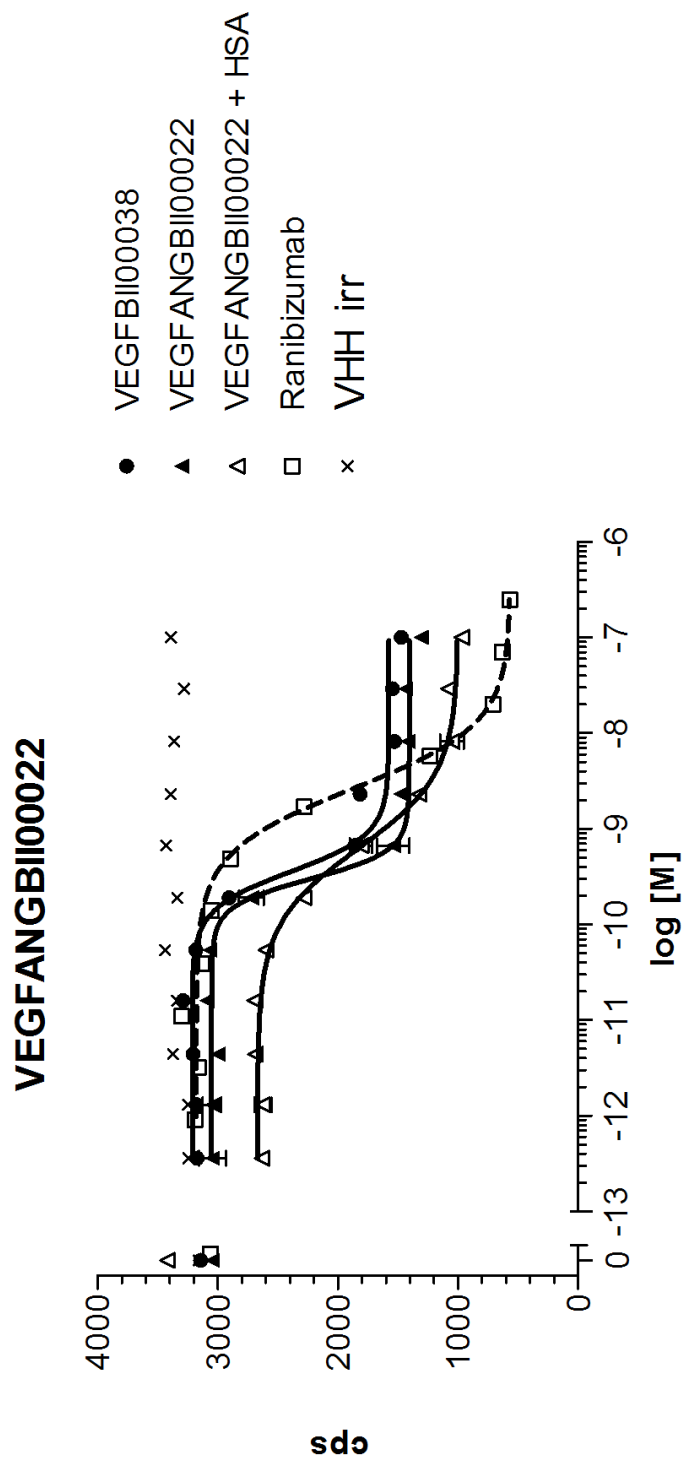


Figura 31-2B

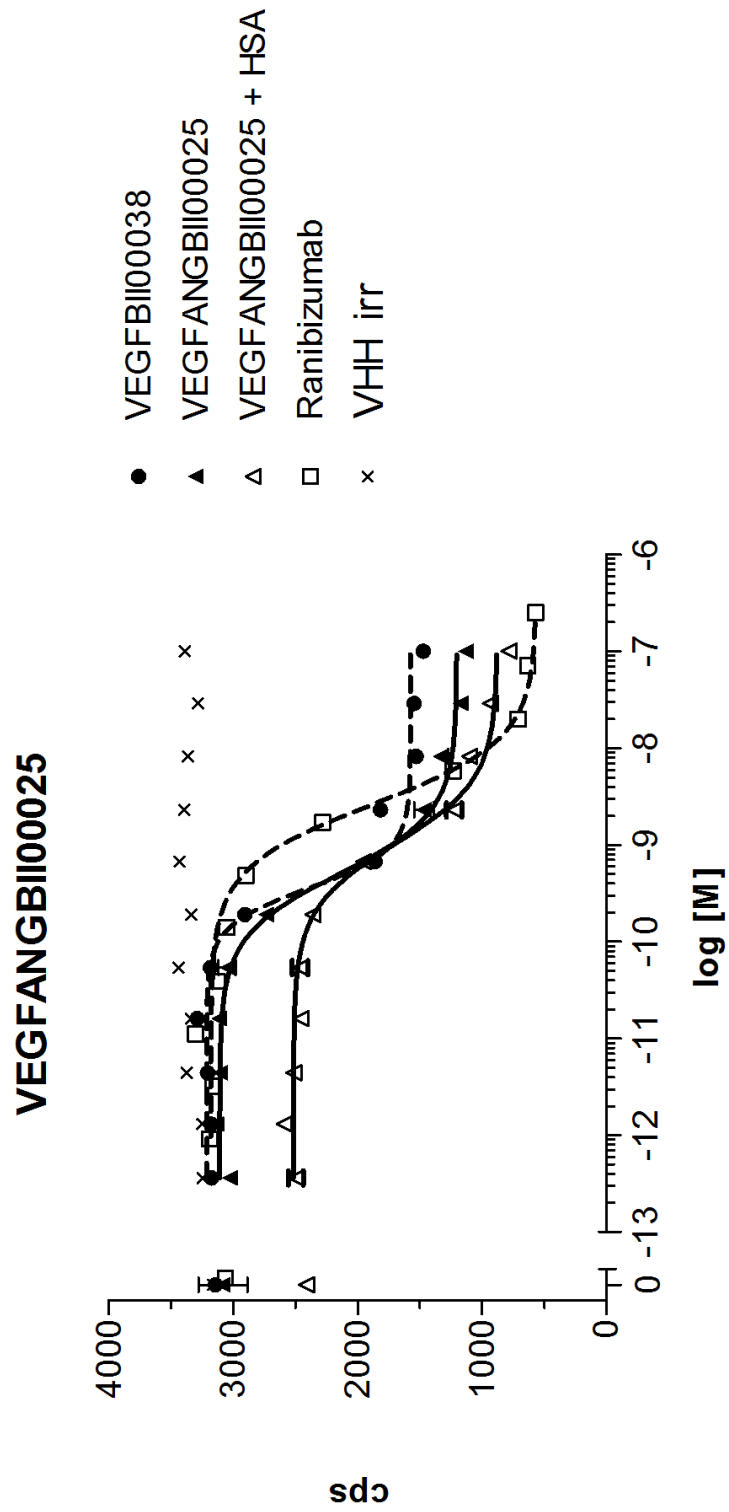


Figura 31-2C

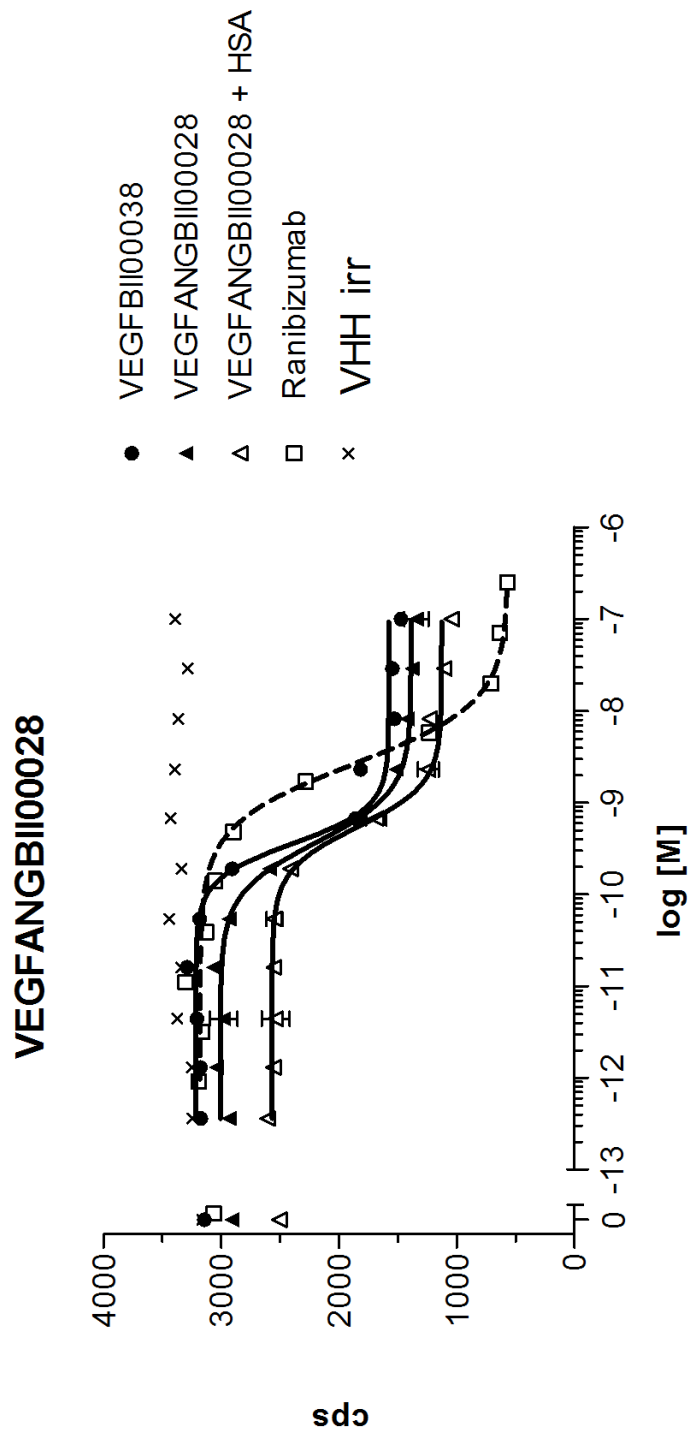


Figura 32A

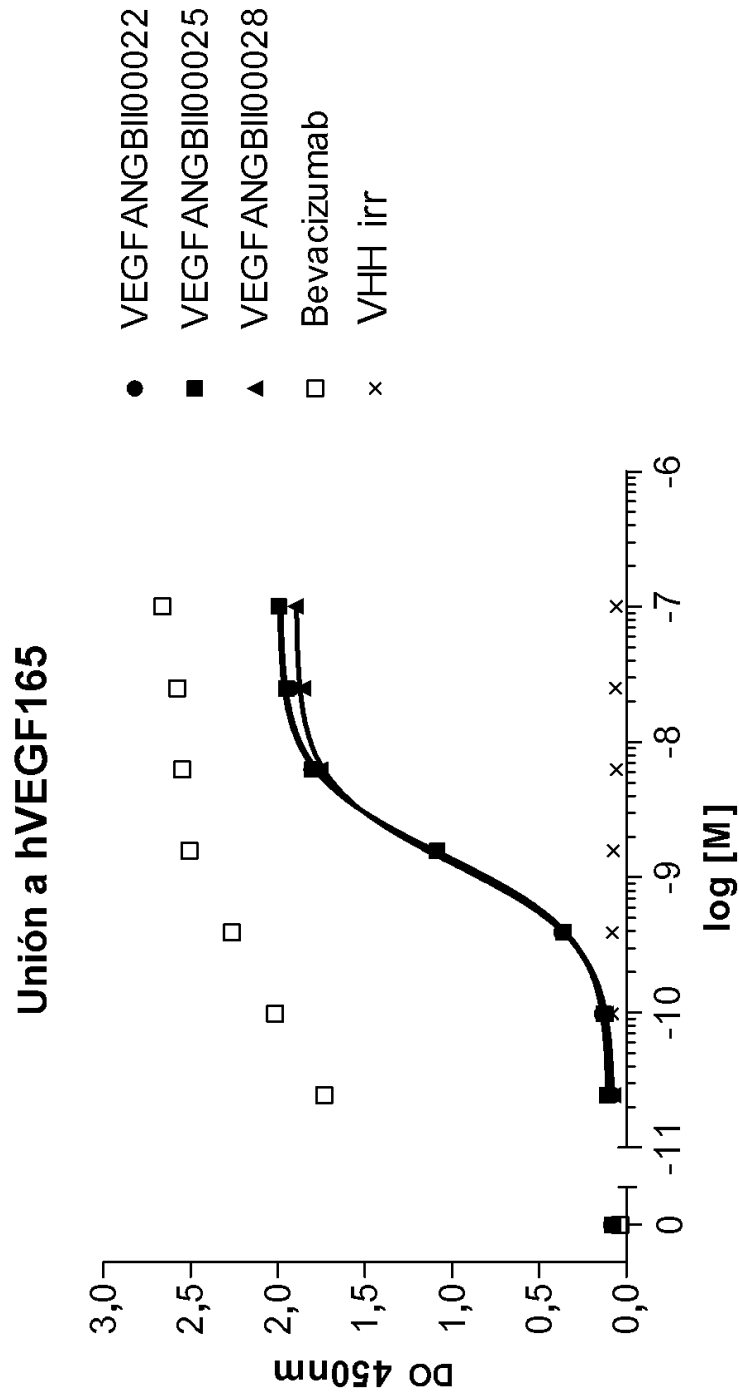


Figura 32B

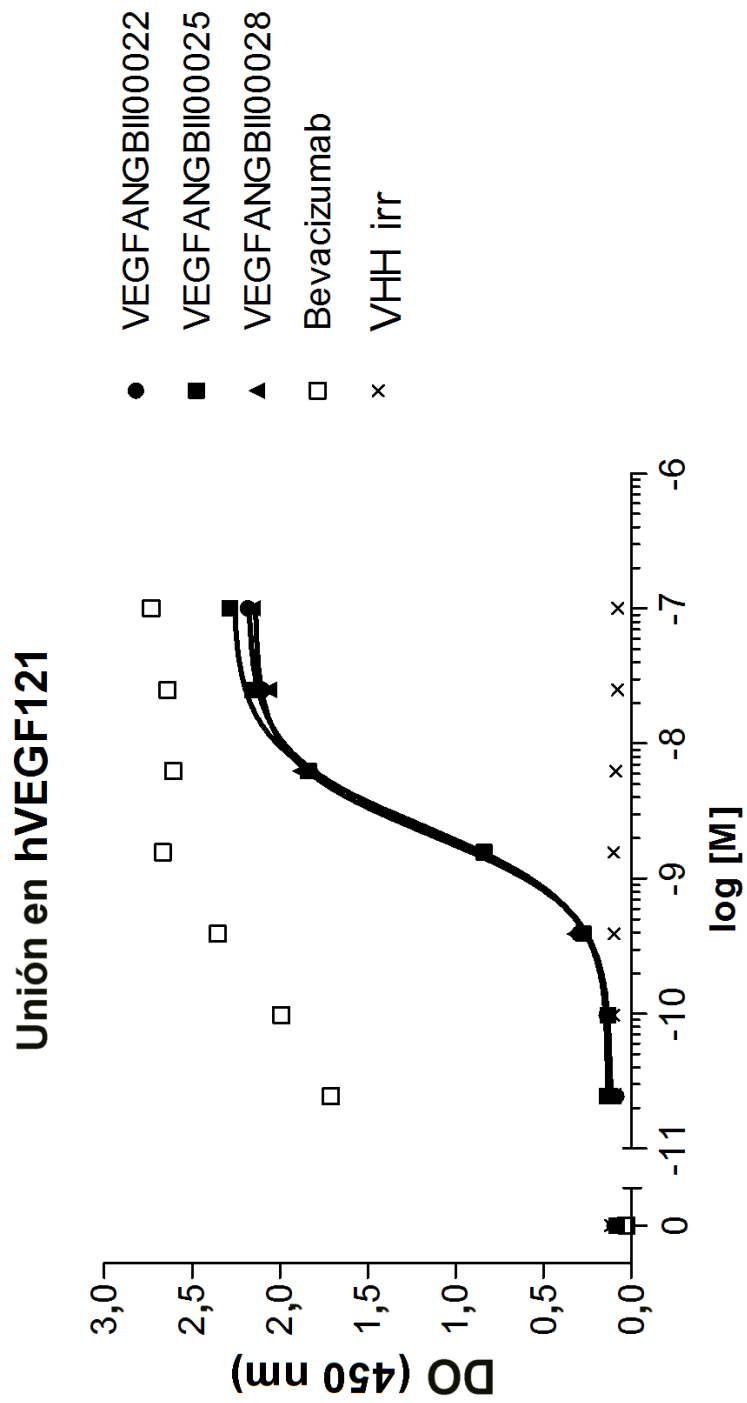


Figura 33A

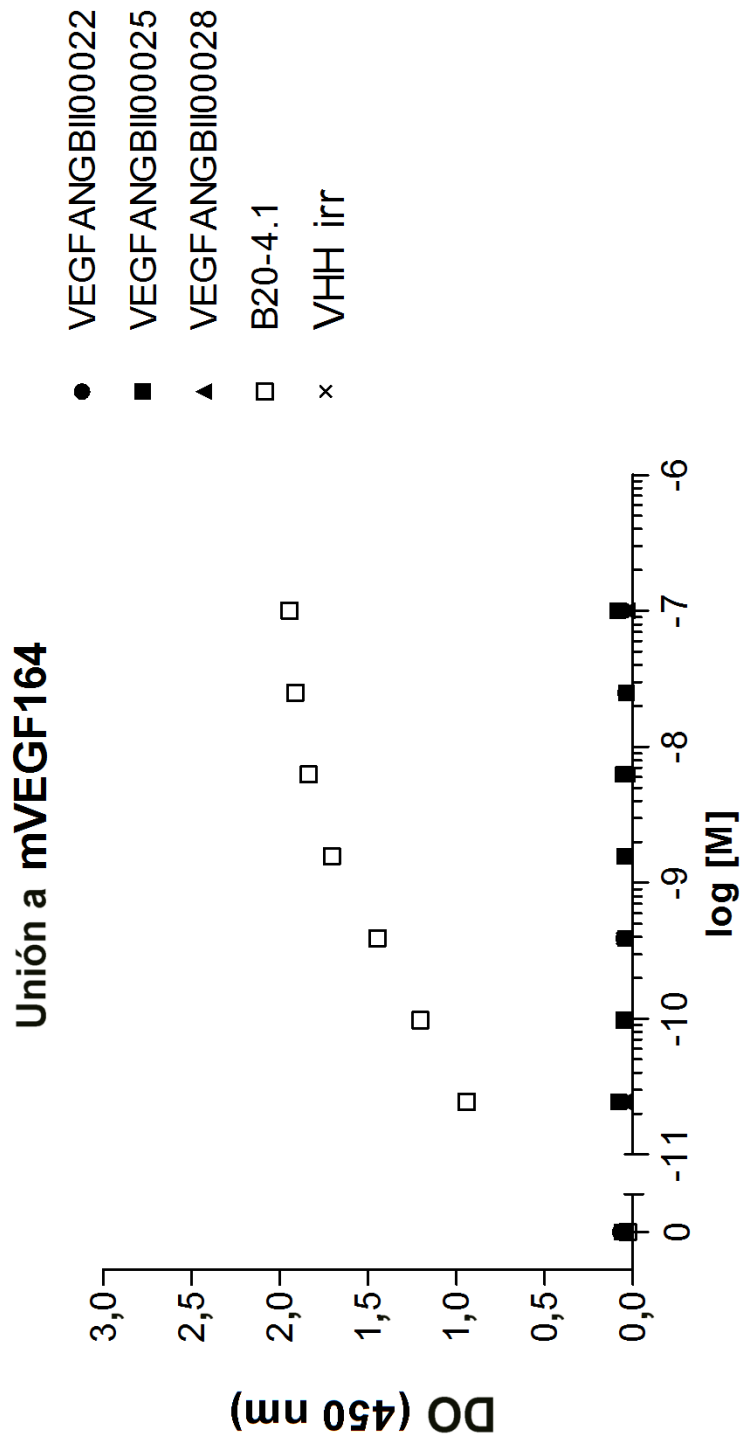


Figura 33B

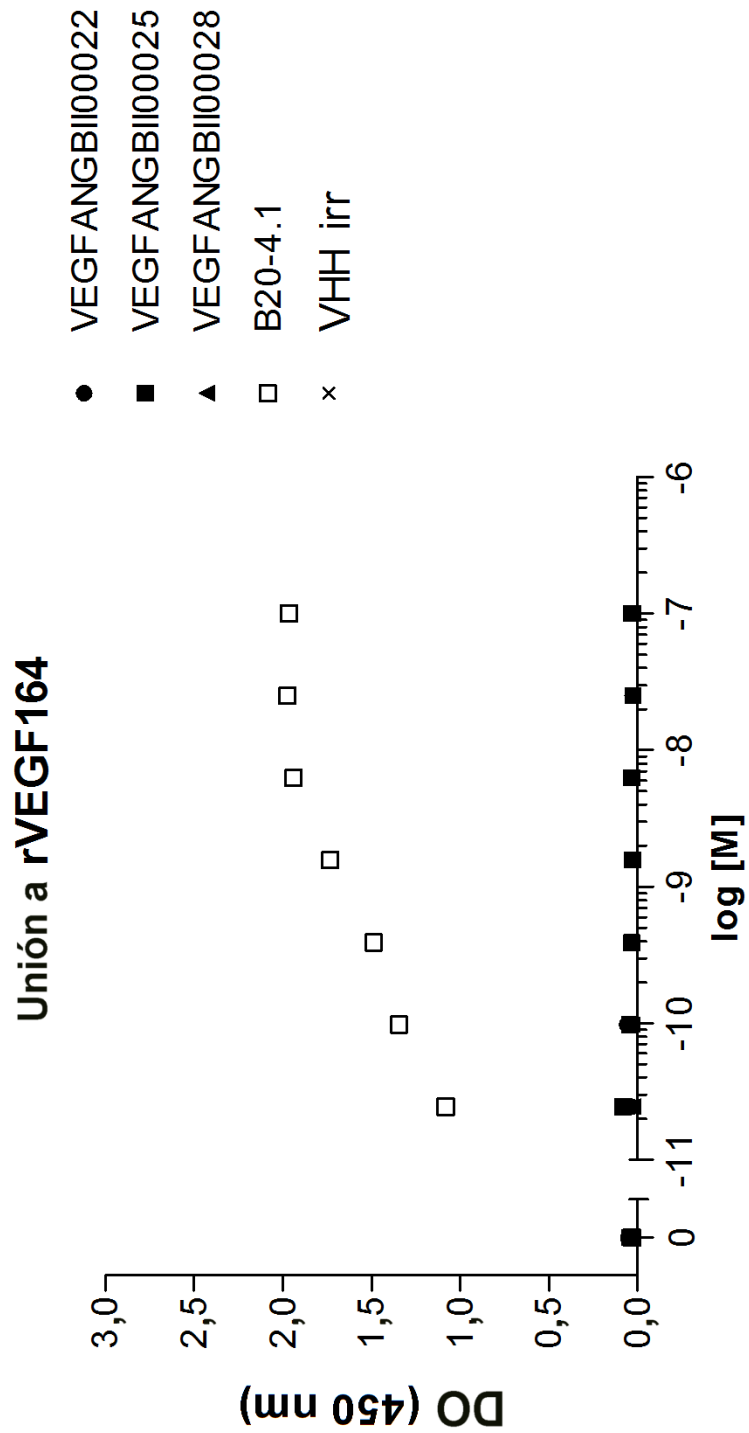


Figura 34A

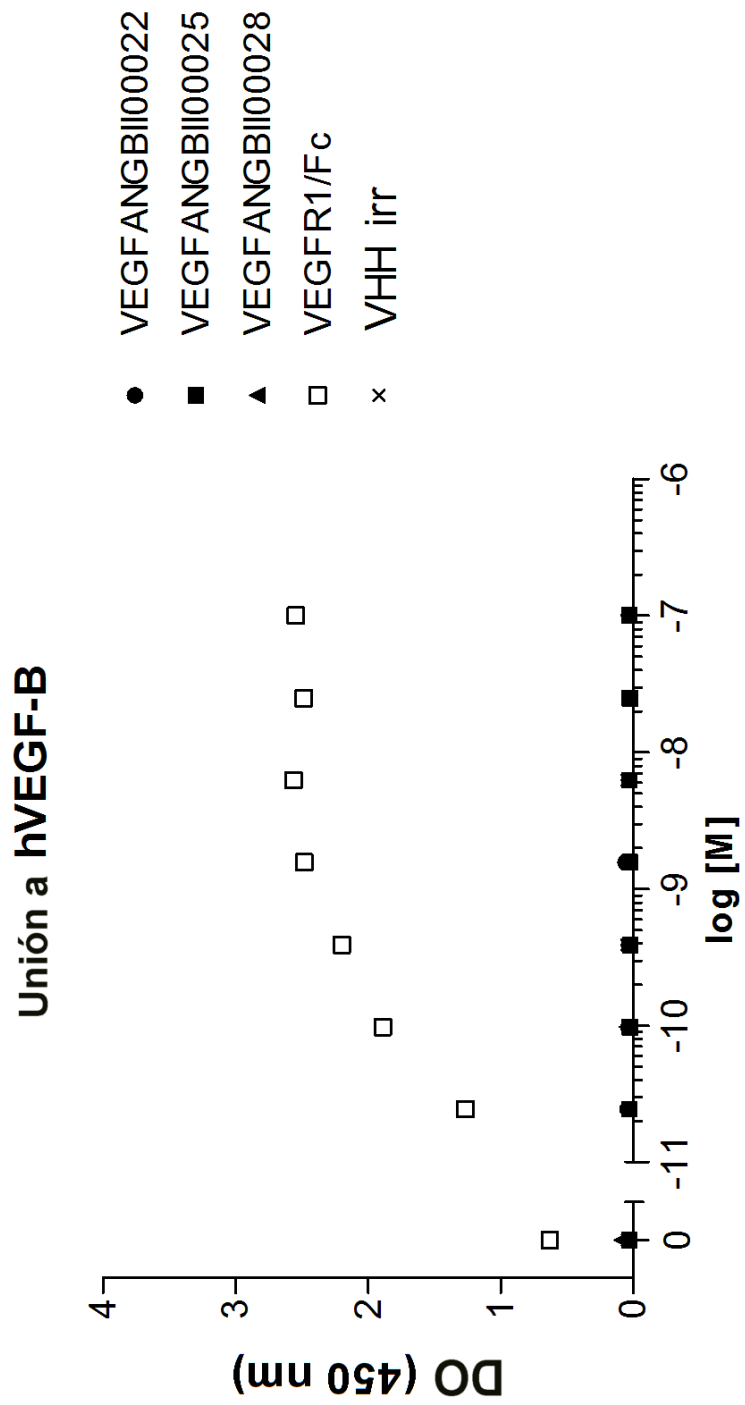


Figura 34B

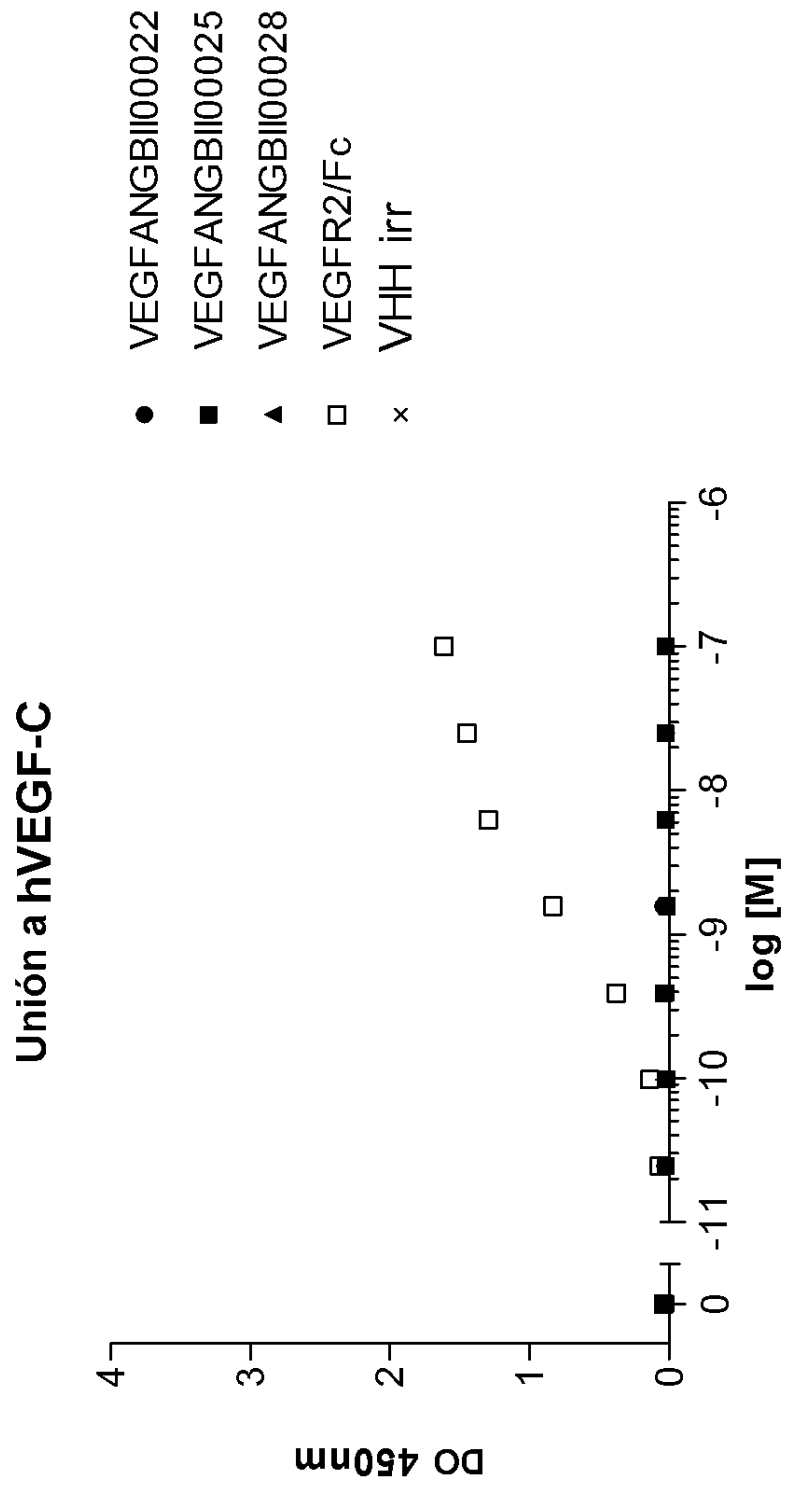


Figura 34C

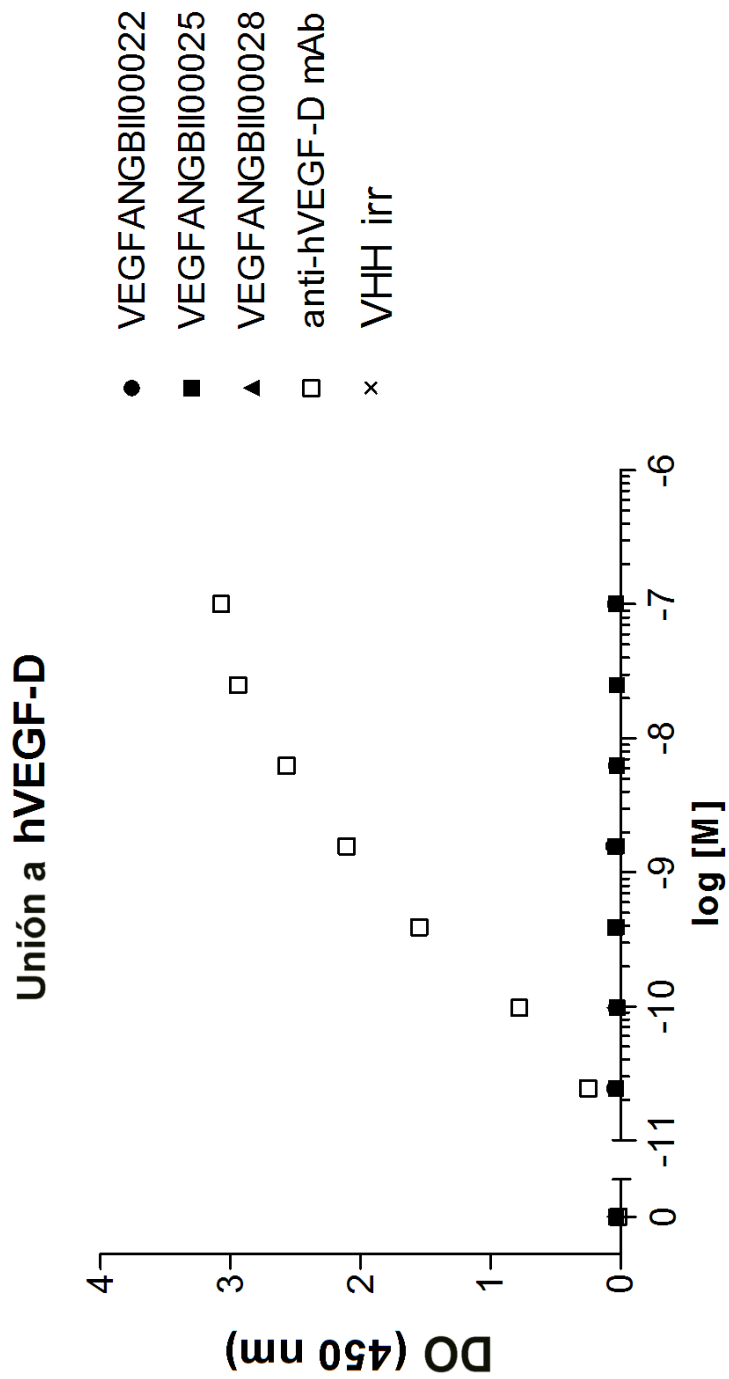


Figura 34D

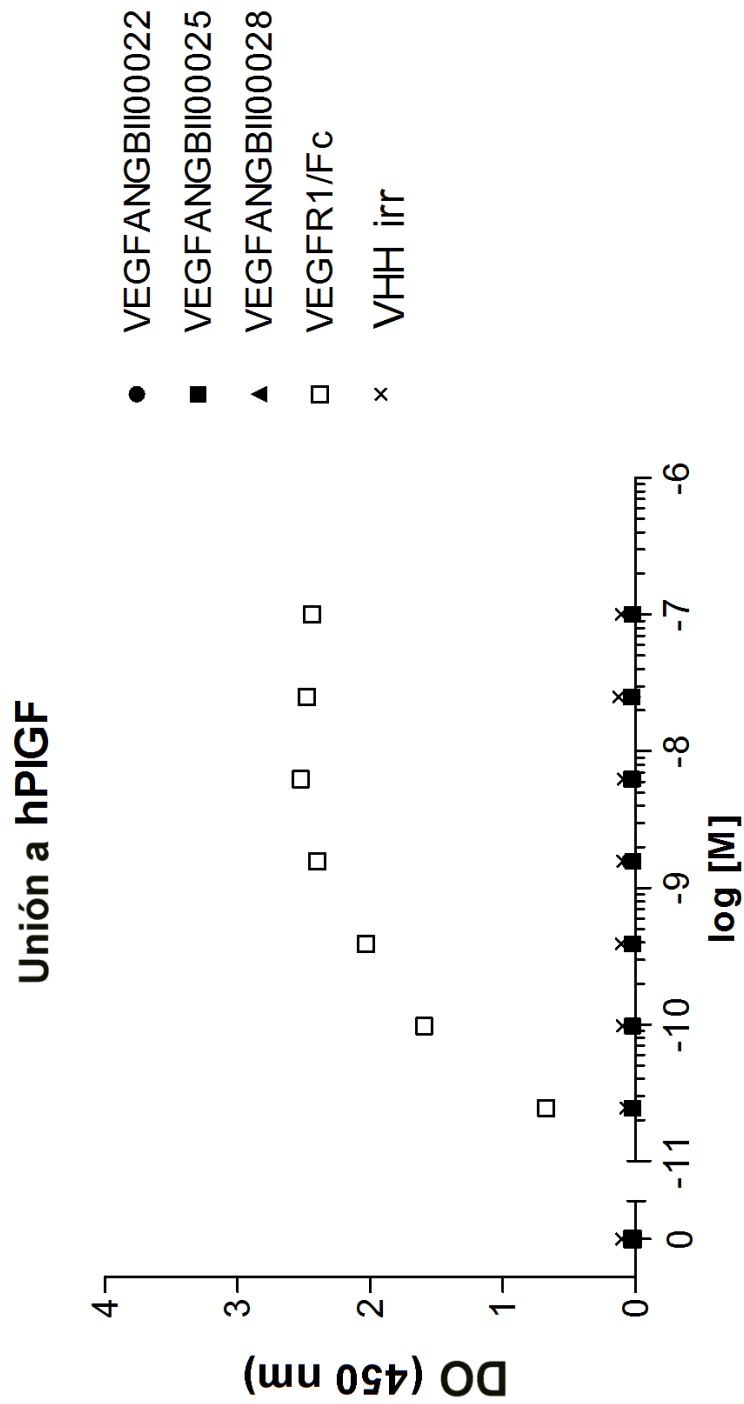


Figura 35-1A

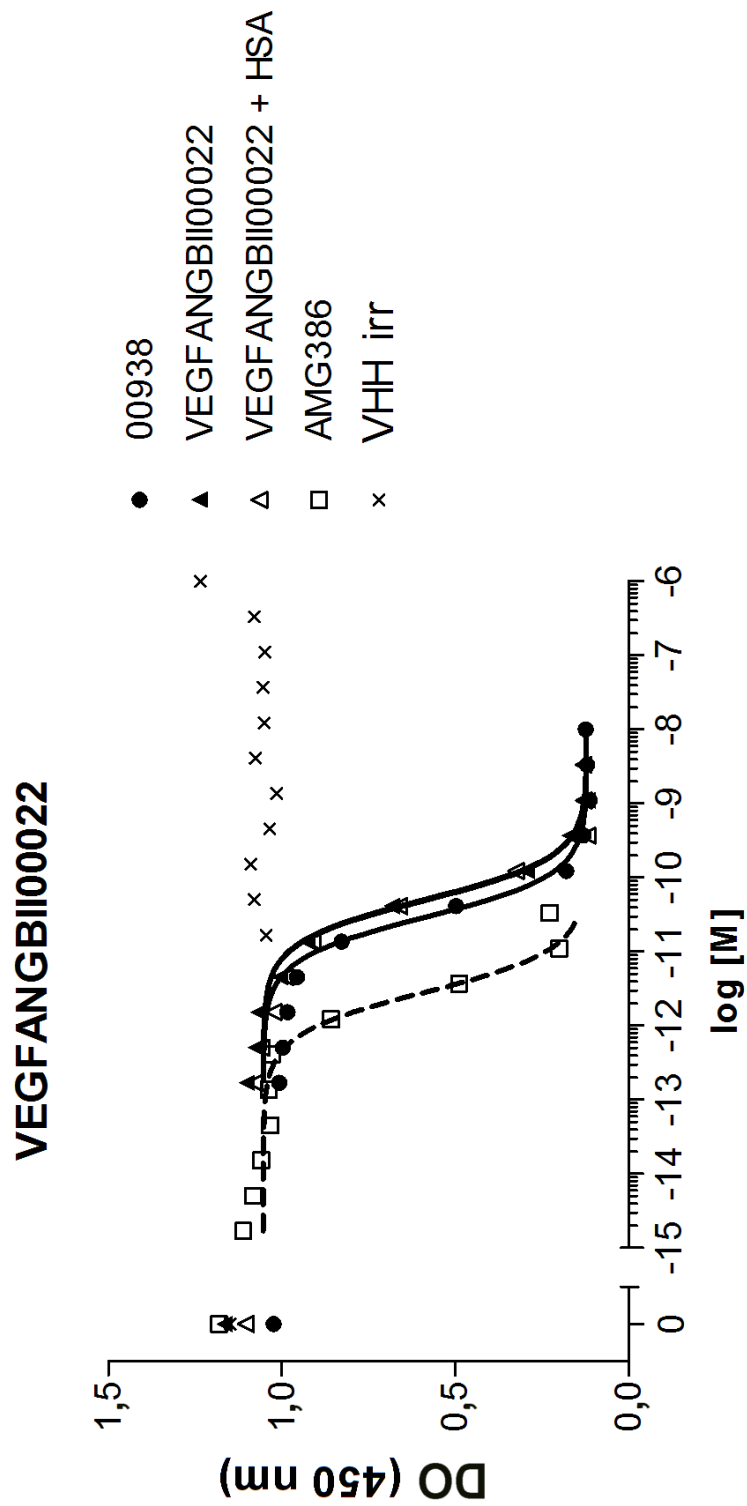


Figura 35-1B

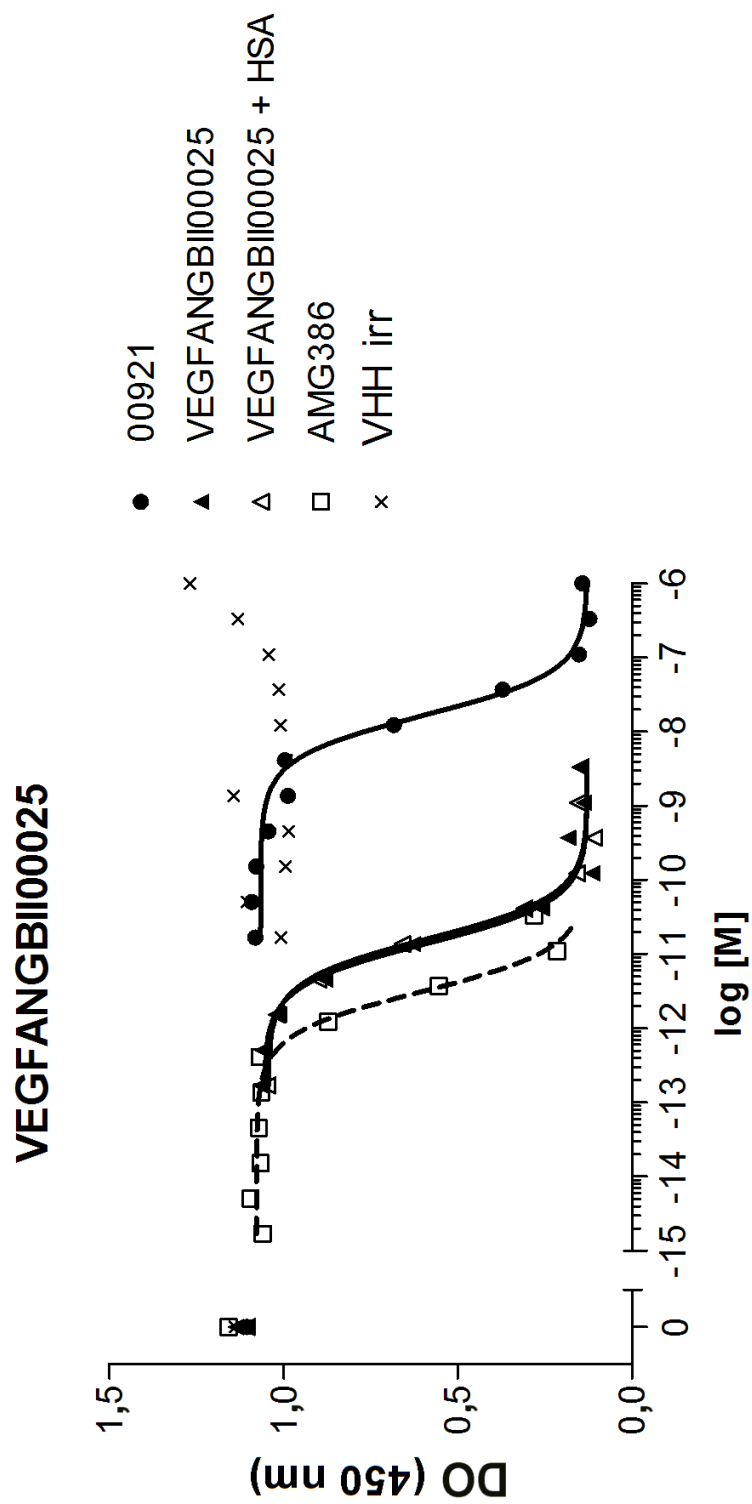


Figura 35-1C

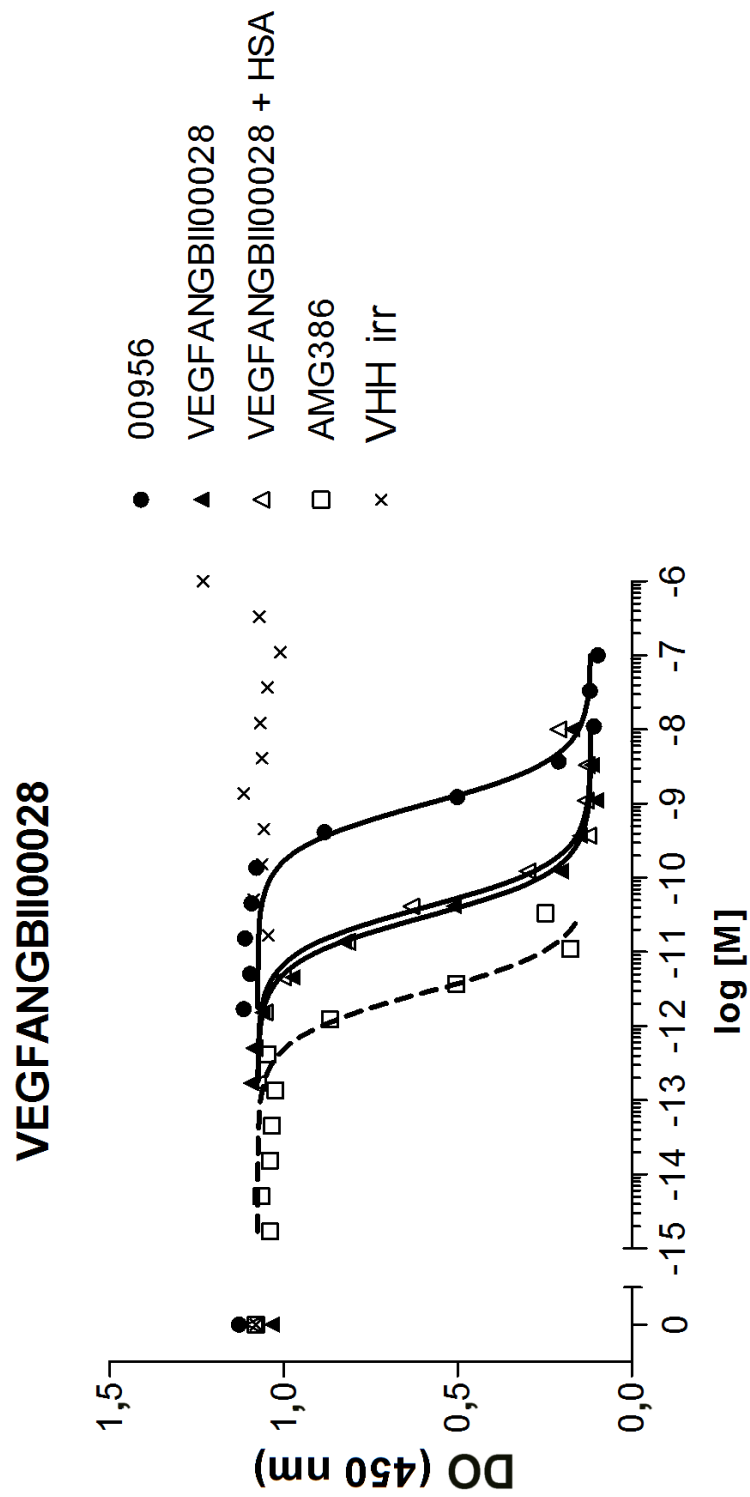


Figura 35-2A

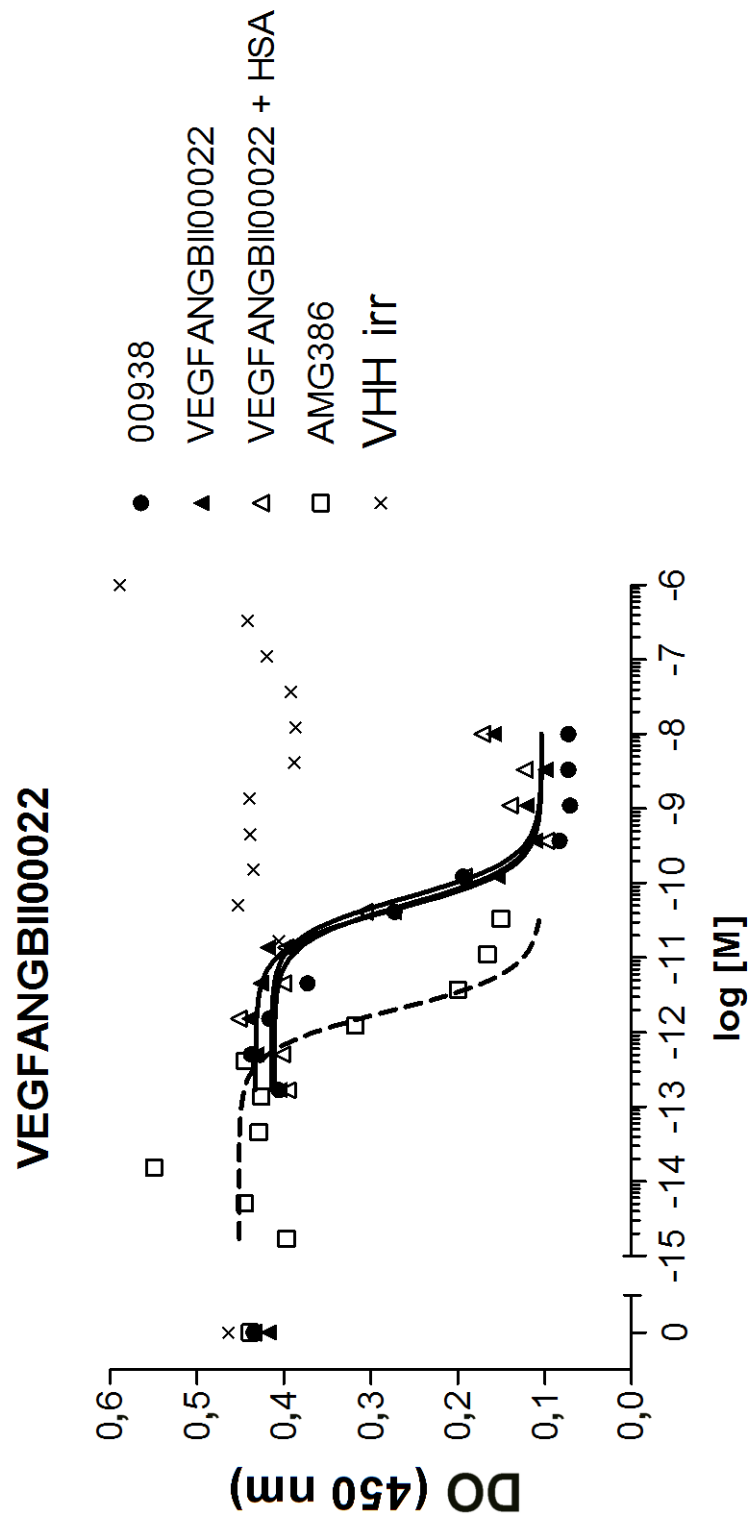


Figura 35-2B

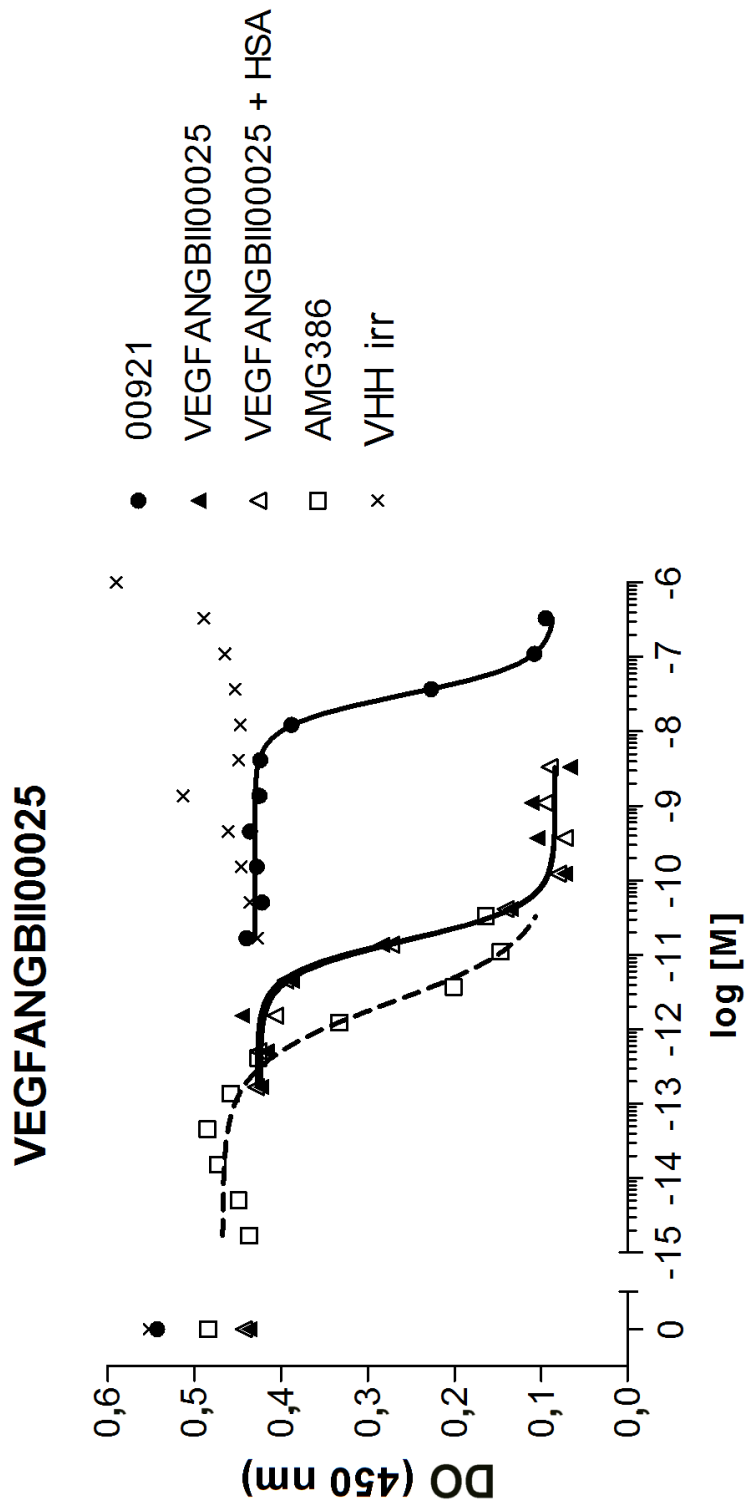


Figura 35-2C

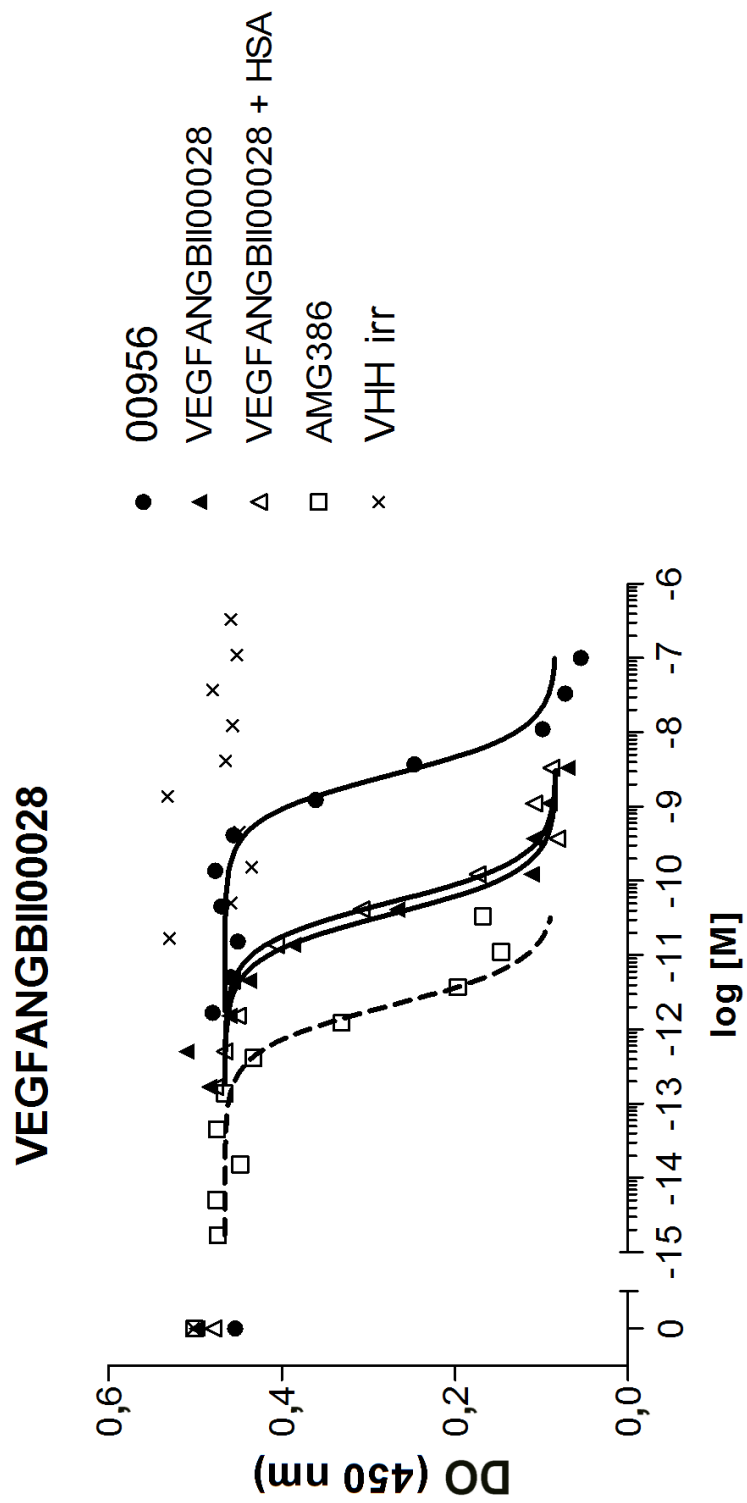


Figura 35-3A

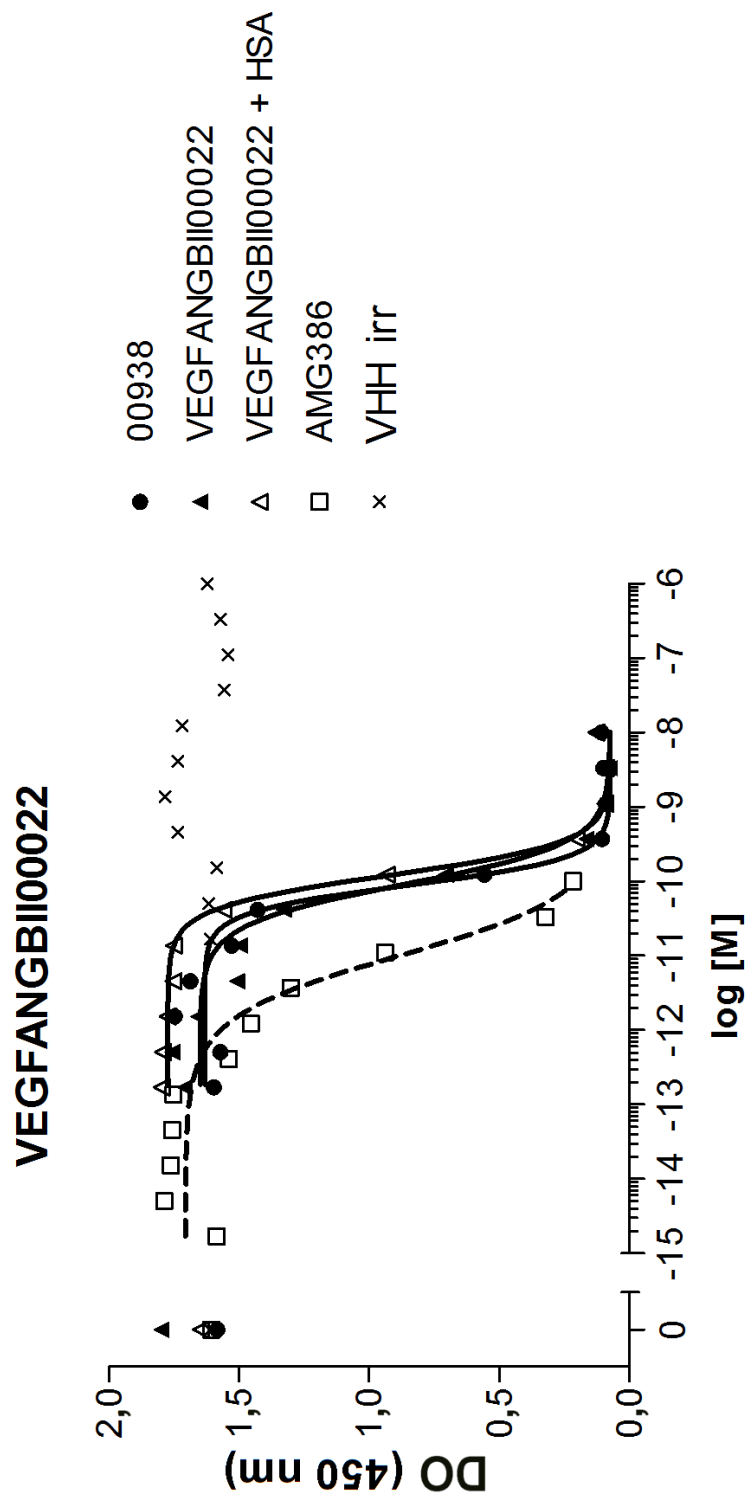


Figura 35-3B

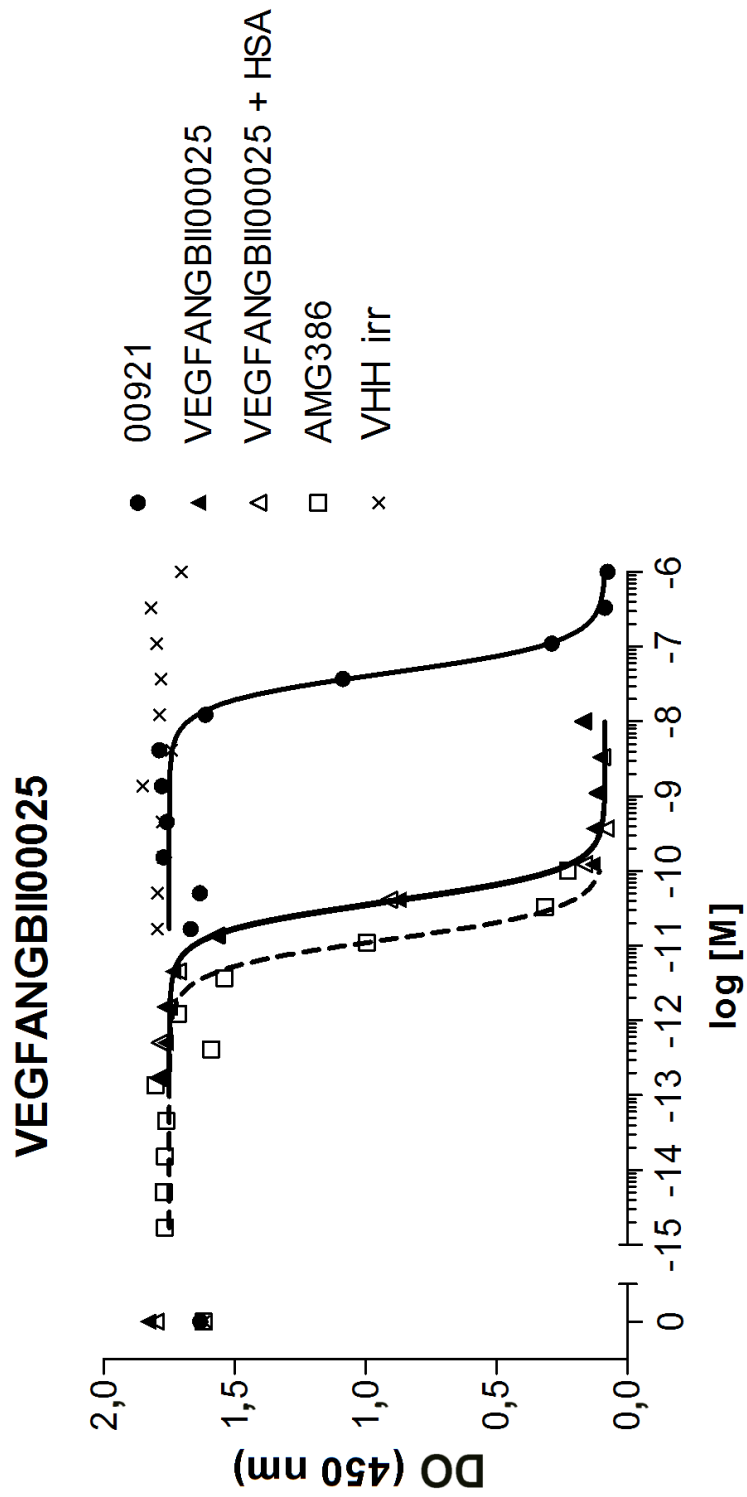


Figura 35-3C

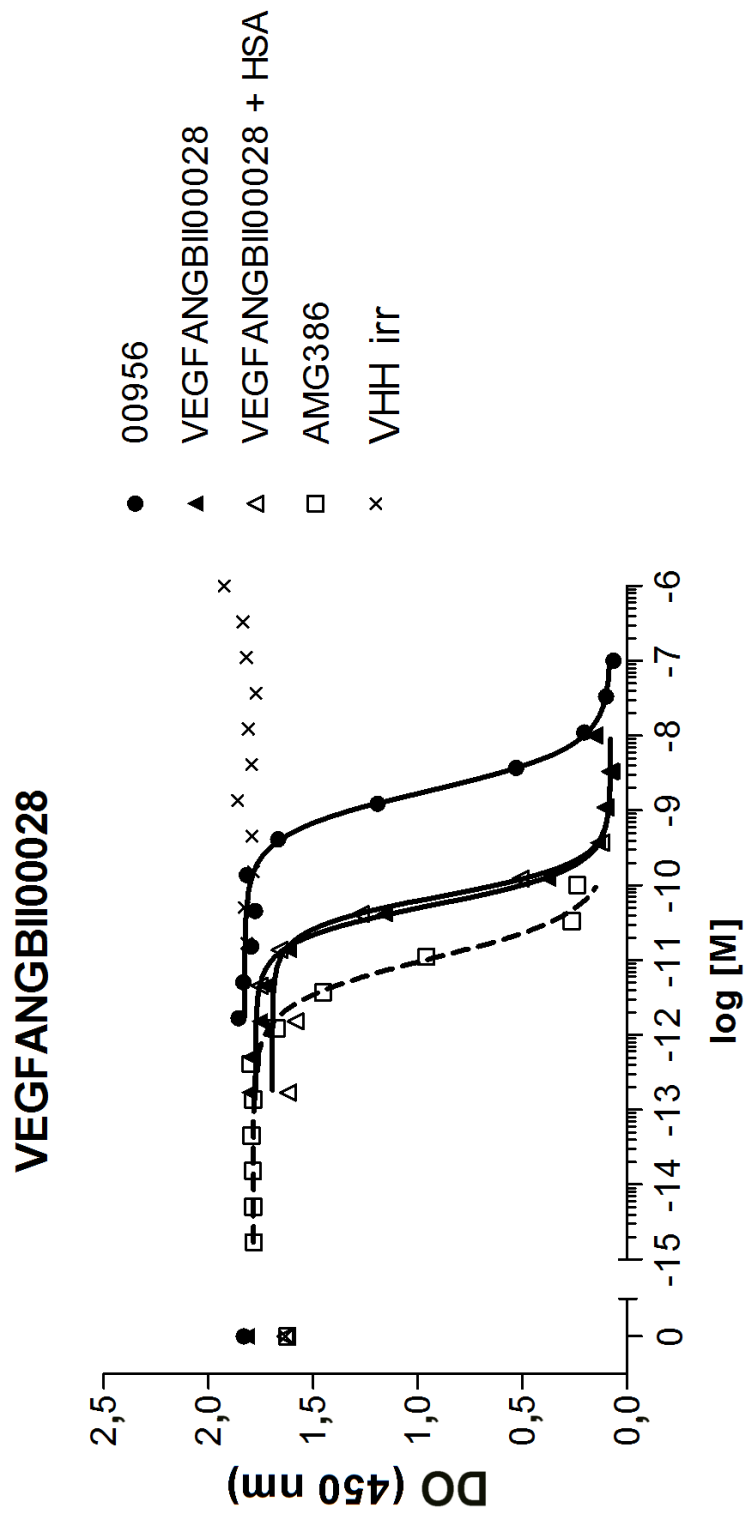


Figura 36A

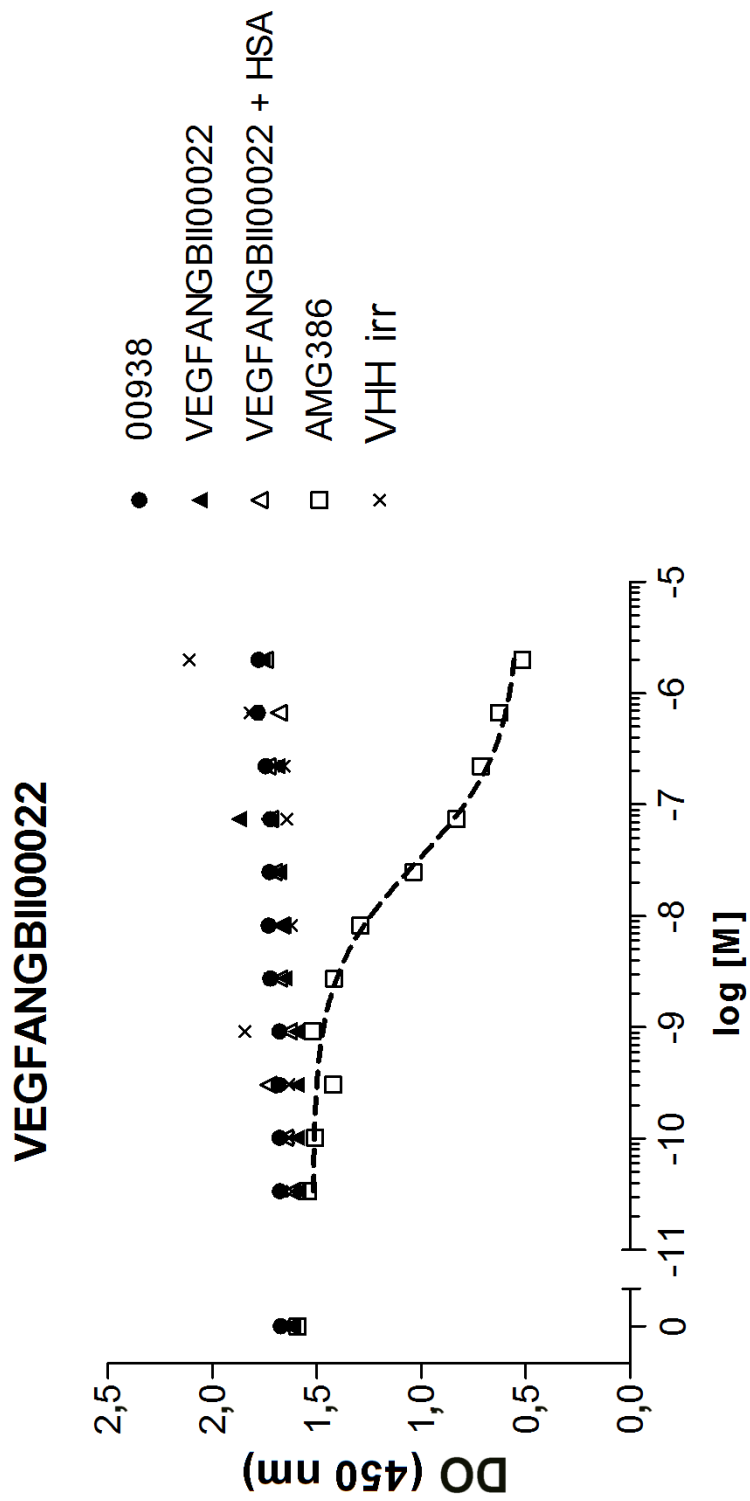


Figura 36B

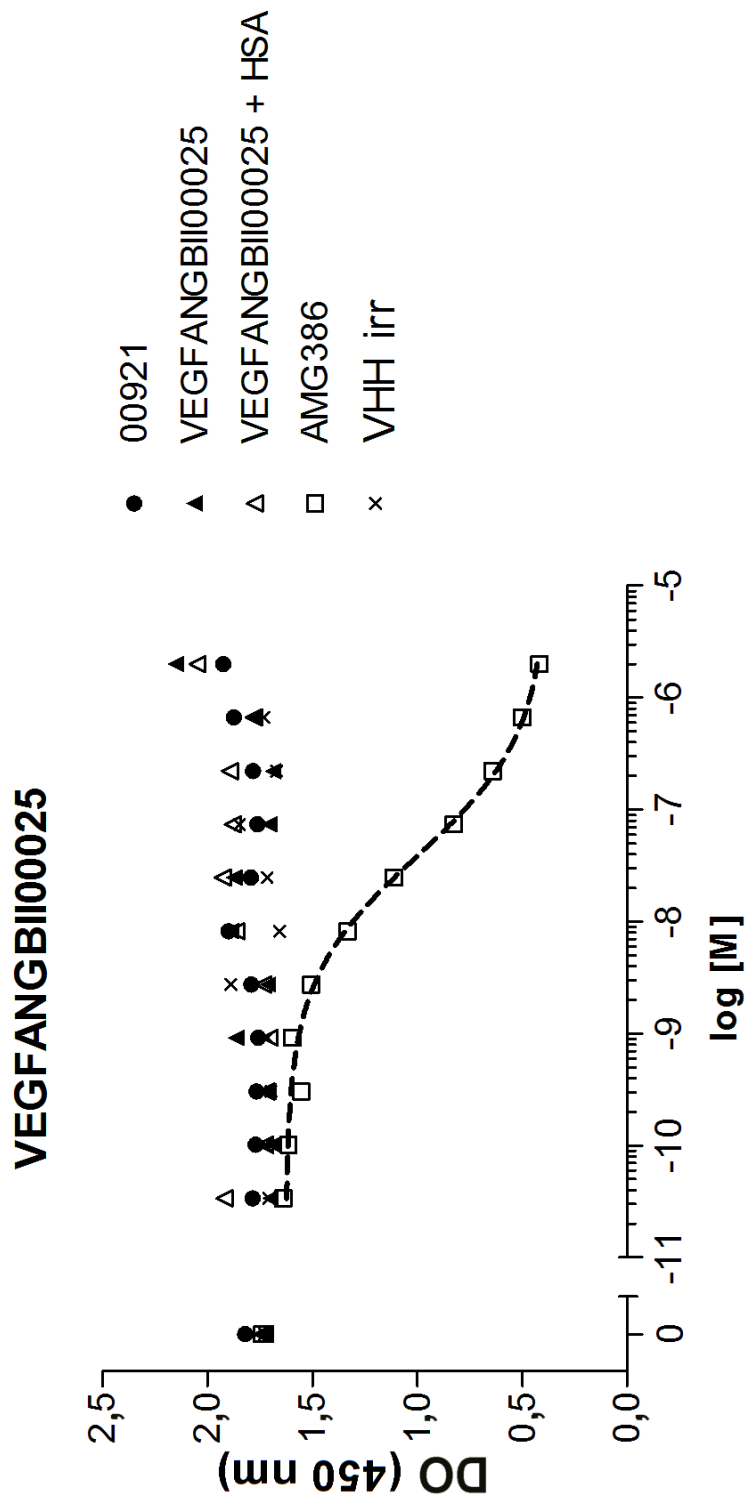


Figura 36C

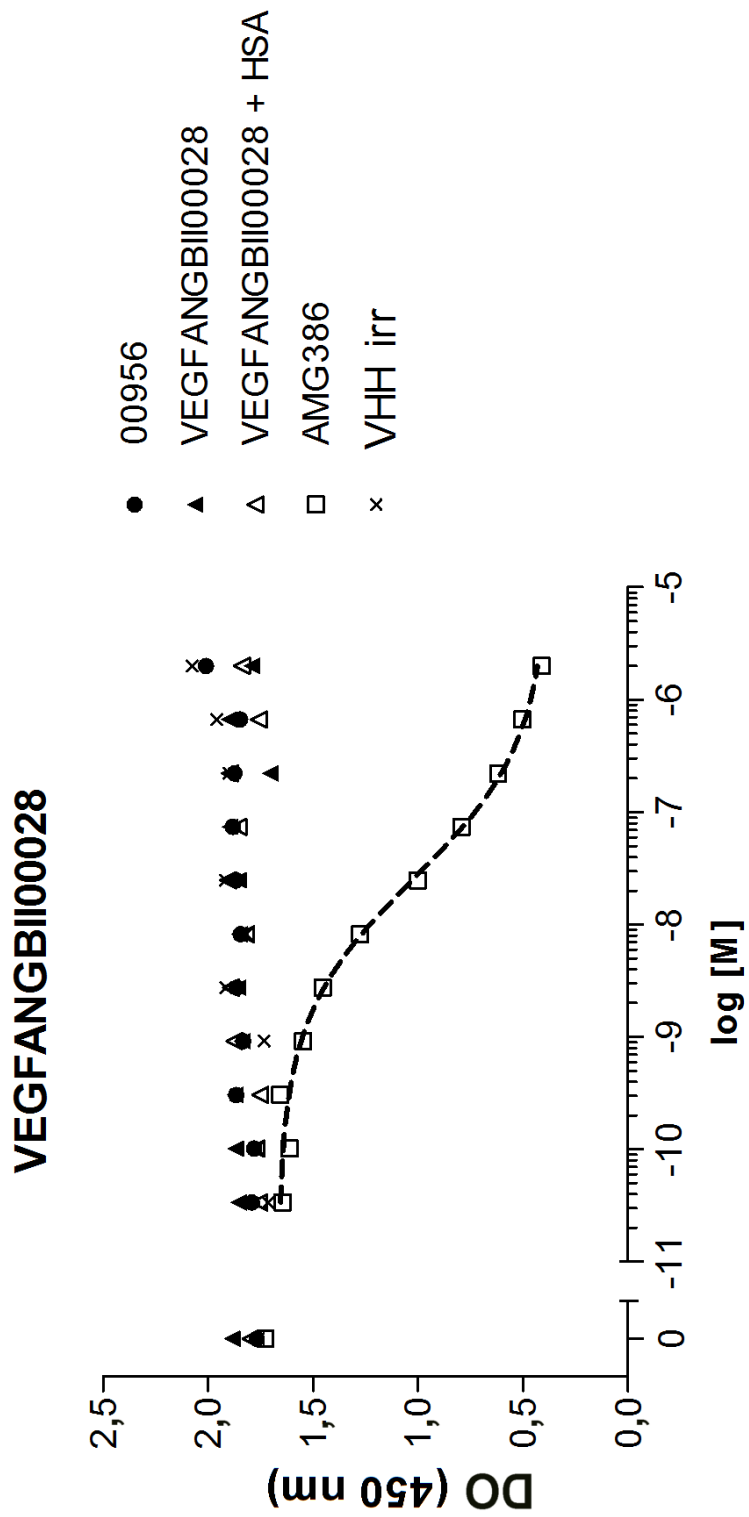


Figura 37A

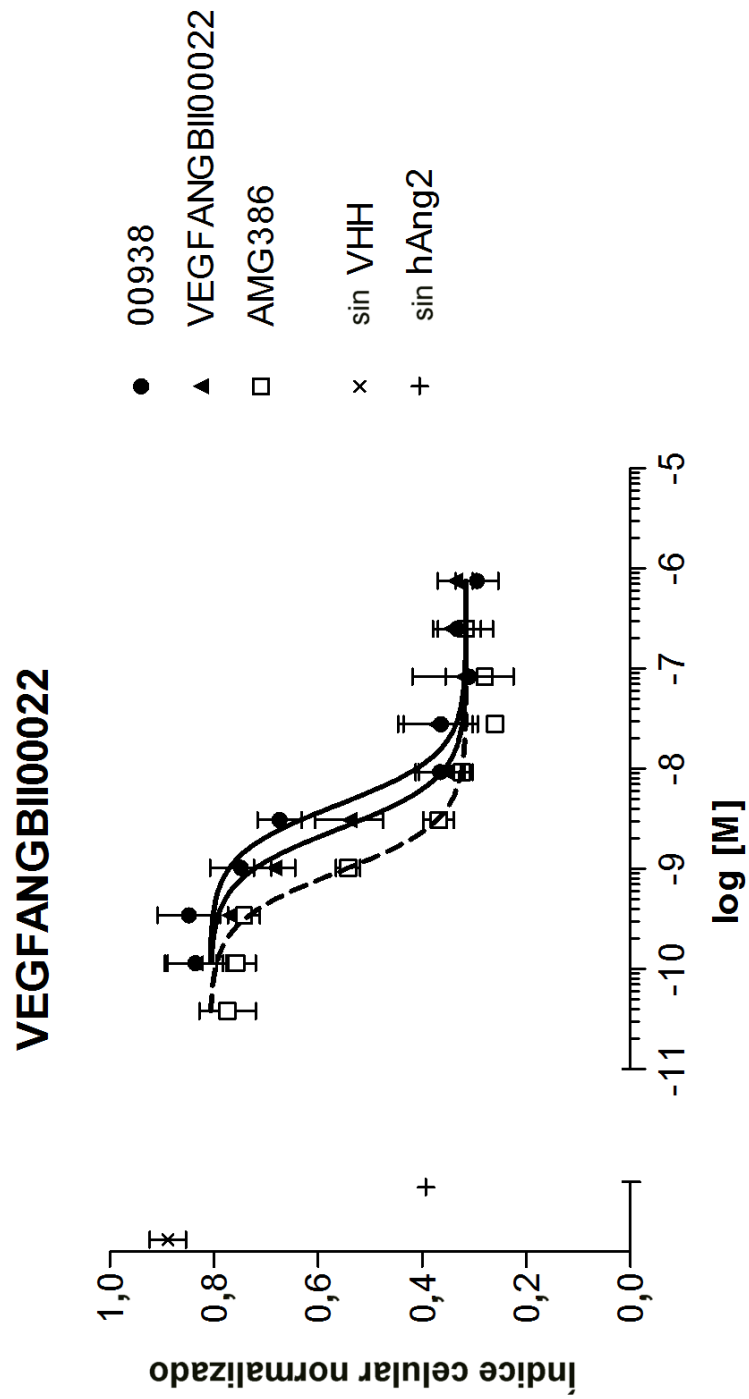


Figura 37B

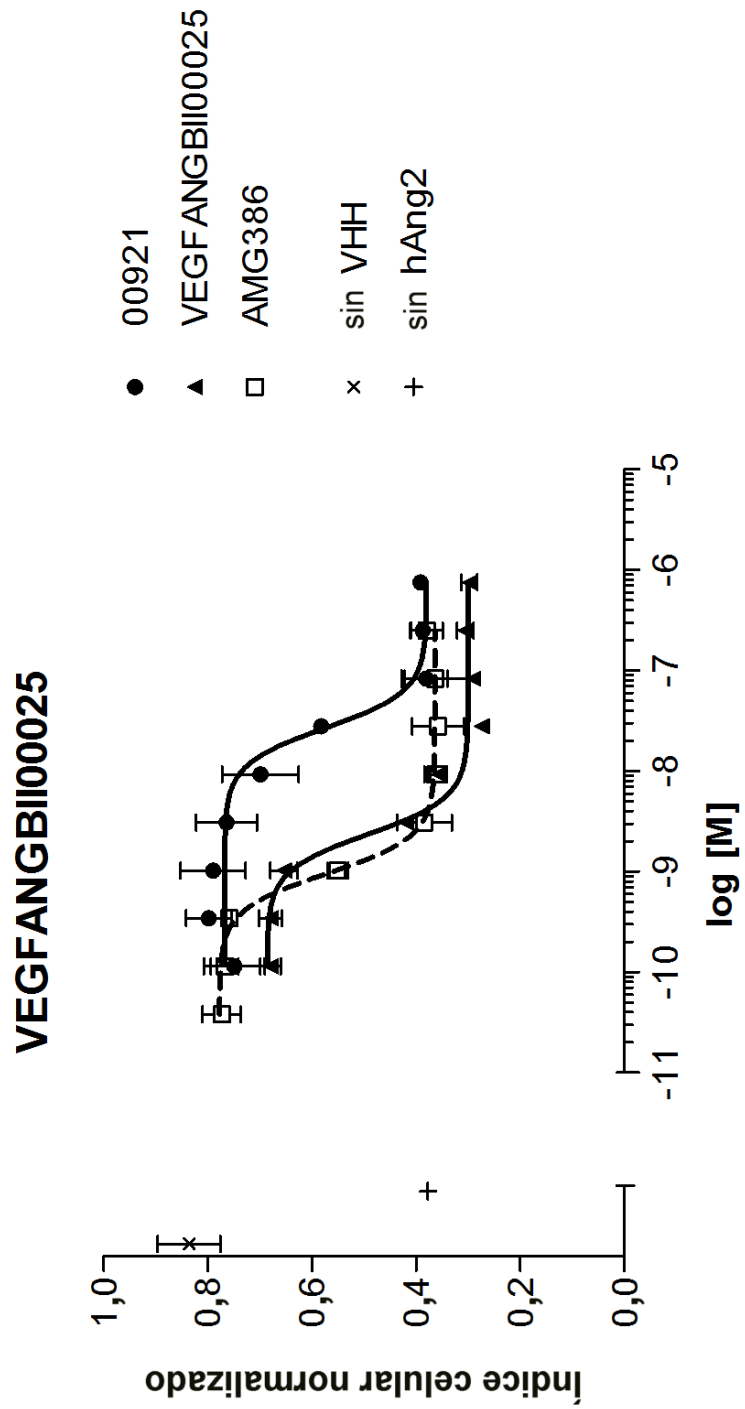


Figura 37C

