(19) OFICINA ESPAÑOLA DE PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA

(11) Número de publicación: **2 754 427**

(51) Int. CI.:

C07K 16/28 (2006.01)
C07K 16/30 (2006.01)
C07K 16/46 (2006.01)

(12) TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA T3

(86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.05.2016 PCT/EP2016/060859**

(87) Fecha y número de publicación internacional: **17.11.2016 WO16180969**

(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.05.2016 E 16722887 (3)**

(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **21.08.2019 EP 3294768**

(54) Título: **Polipéptidos de reclutamiento de células T basados en la reactividad de TCR alfa/beta**

(30) Prioridad:

13.05.2015 US 201562160757 P
07.04.2016 US 201662319486 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
17.04.2020

(73) Titular/es:

ABLYNX N.V. (100.0%)
Technologiepark 21
9052 Ghent-Zwijnaarde, BE

(72) Inventor/es:

ROOBROUCK, ANNELIES;
VAN HOORICK, DIANE y
VIEIRA, JOAO

(74) Agente/Representante:

FÚSTER OLAGUIBEL, Gustavo Nicolás

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

Polipéptidos de reclutamiento de células T basados en la reactividad de TCR alfa/beta

Campo de la invención

La presente invención proporciona polipéptidos de reclutamiento de células T multiespecíficos que se unen al dominio constante de TCR en una célula T y al menos un antígeno en una célula diana. La presente invención también se refiere a los polipéptidos de reclutamiento de células T monovalentes para uso en estos polipéptidos multiespecíficos. La invención también proporciona métodos para el tratamiento y kits que proporcionan los mismos.

Antecedentes

El cáncer tiene un coste humano enorme en todo el mundo. Actualmente es la principal causa de muerte en el mundo, seguida de la cardiopatía y el accidente cerebrovascular. Los cánceres figuran entre las principales causas de morbimortalidad en todo el mundo, con aproximadamente 14 millones de casos nuevos y 8,2 millones de muertes relacionadas con el cáncer en 2012. Se espera que el número de casos nuevos aumente en aproximadamente el 70% en las próximas 2 décadas (fuente: OMS Cancer) El impacto económico total de la muerte prematura y la discapacidad por cáncer en todo el mundo fue de aproximadamente 900 mil millones de $ en 2008, lo que representa el 1,5% del producto interior bruto mundial.

Los regímenes de tratamiento disponibles para tumores sólidos incluyen normalmente una combinación de resección quirúrgica, quimioterapia y radioterapia. En 40 años de experiencia clínica se ha logrado poco progreso, especialmente en estadios avanzados de cáncer.

Se esperan ansiosamente nuevas terapias para combatir el cáncer.

La terapia con anticuerpos es ahora una parte importante del arsenal del médico para combatir las enfermedades y especialmente el cáncer. Los anticuerpos monoclonales se han establecido como un enfoque terapéutico clave para una variedad de enfermedades desde hace varios años. Todas las terapias con anticuerpos aprobadas en este momento se basan en anticuerpos monoclonales monoespecíficos (Acm). Hasta hoy, la mayoría de las dianas de los Acm requieren un enfoque agonista o antagónico. Aunque la selección como diana de los propios antígenos de la superficie celular puede mediar en la actividad antitumoral mediante la inducción de apoptosis, la mayor parte de la actividad basada en Acm contra tumores malignos hematológicos depende de funciones efectoras mediadas por Fc, tales como la citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC).

La inmunoterapia se ha convertido en un área de rápido crecimiento en la investigación del cáncer. La inmunoterapia dirige el sistema de vigilancia inmunitario del cuerpo, y en particular las células T, a las células cancerosas.

Las células T citotóxicas (CTL) son linfocitos T que destruyen células cancerosas, células que están infectadas (particularmente con virus) o células que están dañadas de otras maneras. Los linfocitos T (o células T) expresan el receptor de células T o la molécula de TCR y el receptor CD3 en la superficie celular. El complejo TCR $\alpha\beta$-CD3 (o "complejo TCR") está compuesto por seis proteínas transmembrana unipaso de tipo I diferentes: las cadenas TCRα y TCRβ que forman el heterodímero de TCR responsable del reconocimiento de ligando, y las cadenas de CD3γ, CD3δ, CD3ε y ζ asociadas de manera no covalente que portan motivos de secuencia citoplasmáticos que se fosforilan tras la activación del receptor y reclutan una gran cantidad de componentes de señalización (Call *et al.* 2004, Molecular Immunology 40:1295-1305).

Las cadenas α y β del receptor de células T consisten en un dominio constante y un dominio variable. Fisiológicamente, las cadenas $\alpha\beta$ del receptor de células T reconocen el complejo CMH cargado de péptidos y se acoplan al engancharse a las cadenas de CD3. Estas cadenas de CD3 transducen posteriormente la señal de enganche al entorno intracelular.

Teniendo en cuenta el potencial de los linfocitos T citotóxicos (CTL) que se producen de manera natural para mediar en la lisis celular, se han explorado diversas estrategias para reclutar células inmunitarias para mediar en la destrucción de células tumorales. Puesto que los linfocitos T carecen de la expresión de los receptores Fc, no son reclutados a un sitio tumoral a través de la cola de Fc de un monoclonal antitumoral. Como alternativa, las células T del paciente se modificaron con un segundo TCR de especificidad conocida por un antígeno tumoral definido. Esta transferencia celular adoptiva es, por naturaleza, altamente personalizada y laboriosa. Sin embargo, el principal problema de las terapias con células T sigue siendo la gran cantidad de mecanismos de escape inmunitario conocidos en pacientes con cáncer (Nagorsen *et al.* 2012, Pharmacology & Therapeutics 136: 334-342).

En lugar de producir respuestas específicas de células T, que se basan en la expresión de las células cancerosas de las moléculas de CMH y la presencia, generación, el transporte y la presentación de antígenos peptídicos

específicos, desarrollos más recientes han intentado combinar las ventajas de la inmunoterapia con la terapia con anticuerpos mediante la participación de todas las células T de un paciente de forma policlonal a través de tecnologías basadas en anticuerpos recombinantes: “biespecíficos”.

Se han diseñado anticuerpos biespecíficos que tienen una parte de reconocimiento tumoral en un brazo (brazo de unión a la diana) mientras que el otro brazo de la molécula tiene especificidad por un antígeno de células T (brazo de unión al efector), principalmente CD3. A través de la unión simultánea de los dos brazos a sus respectivos antígenos, los linfocitos T se dirigen hacia y se activan en la célula tumoral donde pueden ejercer su función citolítica.

El concepto de usar anticuerpos biespecíficos para activar las células T contra las células tumorales se describió hace más de 20 años, pero problemas de fabricación y fracasos clínicos provocaron el estancamiento del campo. Se desarrollaron anticuerpos biespecíficos de formato más pequeño, que penetran más fácilmente en tejidos y tumores que los anticuerpos convencionales. Además, el formato más pequeño es mejor para crear las sinapsis citolíticas, que destruyen la célula diana. Se pensó que los anticuerpos biespecíficos de formato más pequeño serían más fáciles de fabricar y menos inmunogénicos que los anticuerpos convencionales. Sin embargo, las moléculas de BiTE biespecíficas más pequeñas, que consisten en dos fragmentos variables de cadena sencilla (scFv) unidos por un ligador peptídico de 5 aminoácidos, presentaron una falta de estabilidad (los scFv tienden a agregarse), bajos títulos de expresión y escasa solubilidad. Además, los primeros ensayos clínicos de blinatumomab (una molécula de BiTE), que reconoce cadenas de CD3, se interrumpieron prematuramente debido a acontecimientos adversos neurológicos, síndrome de liberación de citocinas e infecciones, por un lado, y la ausencia de respuestas clínicas objetivas o signos sólidos de actividad biológica, por otro lado. Dejando aparte la eficacia, los BiTE deben infundirse continuamente, probablemente debido a la falta de un dominio Fc, lo que no contribuye al cumplimiento del paciente. El mismo problema es válido para los DART (moléculas de redireccionamiento de doble afinidad desarrolladas por MacroGenics), en las que el dominio variable de cadena pesada de un anticuerpo (Ac) se une con el dominio variable de cadena ligera de otro Ac. MacroGenics ahora intenta resolver este problema fusionando un dominio Fc en su DART de próxima generación, lo que hace que la molécula no sólo sea más grande, sino que también da como resultado problemas de fabricación e importación de otras funciones de Fc. Se espera que el formato más grande con Fc tenga una mejor PK, pero reintroduce el riesgo de actividad fuera de la diana. (Garber 2014, Nature reviews 13: 799-801)

Majidzadeh *et al*., 2015 (Reunión anual de inmunoterapia contra el cáncer, 263) divulga un Nanobody bifuncional, que se une a CD3 y MUC1 según la sección de materiales y métodos.

El documento WO 2015/006749 divulga constructos de unión a antígeno CD3-CD19 y CD3-CD20 biespecíficos que se unen específicamente a una de las subunidades del receptor CD3.

Spiess *et al*., 2015, Mol. Immunol 67 (2) págs. 95-106 menciona numerosos anticuerpos biespecíficos que se unen específicamente a CD3 en la tabla 1.

El documento US 2014/154253 divulga heterodímeros multiespecíficos que comprenden todos un dominio de unión a CD3.

Por tanto, sigue existiendo la necesidad de formatos biespecíficos alternativos.

Sumario de la invención

La invención resuelve este problema proporcionando polipéptidos multiespecíficos que comprenden un primer y al menos un dominio variable único de inmunoglobulina (ISV) adicional, en el que dicho primer ISV tiene una alta afinidad por/se une a un dominio constante del receptor de células T (TCR); dicho al menos un segundo ISV tiene una alta afinidad por/se une a un antígeno presente en una célula diana tal como se define adicionalmente en las reivindicaciones. En un aspecto particular, la unión del primer ISV activará el potencial citolítico intrínseco de la célula T contra una célula diana independientemente del CMH.

Por tanto, en un primer aspecto, la presente invención proporciona un polipéptido que comprende un primer y un segundo dominios variables únicos de inmunoglobulina (ISV), en el que

- dicho primer ISV tiene alta afinidad por/se une al dominio constante del receptor de células T (TCR) presente en una célula T;

- dicho segundo ISV tiene alta afinidad por/se une a un primer antígeno en una célula diana;

en el que dicho primer antígeno es diferente de dicho TCR; y

en el que dicha célula diana es diferente de dicha célula T tal como se define adicionalmente en las reivindicaciones.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho polipéptido dirige la célula T a la célula diana.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho polipéptido induce la activación de células T.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicha activación de células T es independiente del reconocimiento de CMH.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicha activación de células T depende de la presentación de dicho polipéptido unido a dicho primer antígeno en una célula diana a una célula T.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicha activación de células T provoca una o más respuestas celulares de dichas células T, en el que dicha respuesta celular se selecciona del grupo que consiste en proliferación, diferenciación, secreción de citocinas, liberación de moléculas efectoras citotóxicas, actividad citotóxica, expresión de marcadores de activación y lisis de células diana redirigidas.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicha activación de células T provoca la inhibición de una actividad de dicha célula diana en más de aproximadamente el 10%, tal como el 20%, el 30% o el 40% o incluso más del 50%, tal como más del 60%, tal como el 70%, el 80% o incluso más del 90%, tal como el 100%.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV se une al dominio constante de un receptor de células T α (TCR-α) (SEQ ID NO: 348) y/o el dominio constante del receptor de células T β (TCR-β) (SEQ ID NO: 349), o variantes polimórficas o isoformas de los mismos.

Alternativamente, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV se une al dominio constante de un receptor de células T α (TCR-α) (SEQ ID NO: 484) y/o el dominio constante del receptor de células T β (TCR-β) (SEQ ID NO: 485), o variantes polimórficas o isoformas de los mismos.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho polipéptido y/o primer ISV tiene una constante de velocidad de asociación (Kon) para unirse a dicho TCR seleccionada del grupo que consiste en al menos aproximadamente 10^2 $M^{-1}s^{-1}$, al menos aproximadamente 10^3 $M^{-1}s^{-1}$, al menos aproximadamente 10^4 $M^{-1}s^{-1}$, al menos aproximadamente 10^5 $M^{-1}s^{-1}$, al menos aproximadamente 10^6 $M^{-1}s^{-1}$, 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, al menos aproximadamente 10^8 $M^{-1}s^{-1}$, al menos aproximadamente 10^9 $M^{-1}s^{-1}$ y al menos aproximadamente 10^{10} $M^{-1}s^{-1}$, preferiblemente medido mediante resonancia de plasmón superficial o BLI.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho polipéptido y/o primer ISV tiene una constante de velocidad de disociación (Koff) para unirse a dicho TCR seleccionada del grupo que consiste en como máximo aproximadamente $10^{-3}s^{-1}$, como máximo aproximadamente $10^{-4}s^{-1}$, como máximo aproximadamente $10^{-5}s^{-1}$, como máximo aproximadamente $10^{-6}s^{-1}$, como máximo aproximadamente $10^{-7}s^{-1}$, como máximo aproximadamente $10^{-8}s^{-1}$, como máximo aproximadamente $10^{-9}s^{-1}$, y como máximo aproximadamente $10^{-10}s^{-1}$, preferiblemente medido mediante resonancia de plasmón superficial o BLI.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV se une a dicho TCR con un valor de CE50 de entre 100 nM y 1 pM, tal como a un valor de CE50 promedio de 100 nM o menos, incluso más preferiblemente a un valor de CE50 promedio de 90 nM o menos, tal como menos de 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 nM o incluso menos, tal como menos de 4, 3, 2 ó 1 nM o incluso menos, tal como menos de 500, 400, 300, 200, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 pM, o incluso menos, tal como menos de 4 pM, preferiblemente medido mediante citometría de flujo.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV se une a dicho TCR con un valor de KD promedio de entre 100 nM y 10 pM, tal como a un valor de KD promedio de 90 nM o menos, incluso más preferiblemente a un valor de KD promedio de 80 nM o menos, tal como menos de 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 nM o incluso menos, tal como menos de 4, 3, 2 ó 1 nM, tal como menos de 500, 400, 300, 200, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 pM, o incluso menos, tal como menos de 10 pM. Preferiblemente, la KD se determina mediante Kinexa, BLI o SPR, por ejemplo, se determina mediante Proteon.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:119-133; o (b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:123 o con cualquiera de SEQ ID NO:199-133, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:134-163; o (d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:153 o con cualquiera de SEQ ID NO:134-163, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:164-174; o (f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:170 o con cualquiera de SEQ ID NO:164-174, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:123; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 1, 2 ó 3 de aminoácido(s) con SEQ ID NO:123, en las que

- en la posición 2, el D se ha cambiado a, S, E o G;
- en la posición 4, la H se ha cambiado a Y;
- en la posición 5, la K se ha cambiado a L;
- en la posición 6, la I se ha cambiado a L;
- en la posición 8, la F se ha cambiado a I o V; y/o
- en la posición 10, la G se ha cambiado a S.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:153; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2, 3, 4 ó 5 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:153, en las que

- en la posición 1, la H se ha cambiado a T o R;
- en la posición 3, la S se ha cambiado a T o A;
- en la posición 5, la G se ha cambiado a S o A;
- en la posición 7, la Q se ha cambiado a D, E, T, A o V;
- en la posición 8, la T se ha cambiado a A o V; y/o
- en la posición 9, el D se ha cambiado a, Q, N, V o S.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR3 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:170; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2 ó 3 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:170, en el que

- en la posición 1, la F se ha cambiado a Y, L o G;
- en la posición 4, la I se ha cambiado a L;
- en la posición 5, la Y se ha cambiado a W; y/o
- en la posición 8, el D se ha cambiado a N o S.

Preferiblemente, el polipéptido que comprende una o más CDR con una diferencia de 5, 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión del polipéptido que comprende las CDR sin la diferencia de 5, 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:123; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2 ó 3 de diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:123, en las que

- en la posición 2, el D se ha cambiado a, S, E o G;
- en la posición 4, la H se ha cambiado a Y;
- en la posición 5, la K se ha cambiado a L;
- en la posición 6, la I se ha cambiado a L;
- en la posición 8, la F se ha cambiado a I o V; y/o
- en la posición 10, la G se ha cambiado a S,

siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y en las que

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:153; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2, 3, 4 ó 5 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:153, en las que

- en la posición 1, H se ha cambiado a T o R;
- en la posición 3, la S se ha cambiado a T o A;
- en la posición 5, la G se ha cambiado a S o A;
- en la posición 7, la Q se ha cambiado a D, E, T, A o V;
- en la posición 8, la T se ha cambiado a A o V; y/o
- en la posición 9, el D se ha cambiado a A, Q, N, V o S,

siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 5, 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión del polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 5, 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y en las que

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:170; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2 ó 3 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:170, en las que

- en la posición 1, la F se ha cambiado a Y, L o G;
- en la posición 4, la I se ha cambiado a L;
- en la posición 5, la Y se ha cambiado a W; y/o
- en la posición 8, el D se ha cambiado a N o S,

siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con 3, 2 ó 1 diferencia de aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:124; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1 ó 2 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:124, en las que

- en la posición 2, el E se ha cambiado a Q; y/o
- en la posición 6, la I se ha cambiado a V.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:145; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:145, en la que

- en la posición 9, la N se ha cambiado a D.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR3 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:167; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:167, en la que

- en la posición 4, la L se ha cambiado a I.

Preferiblemente, el polipéptido que comprende una o más CDR con una diferencia de 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende las CDR sin la diferencia de 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:124; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1 ó 2 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:124, en las que

- en la posición 2, el E se ha cambiado a Q; y/o
- en la posición 6, la I se ha cambiado a V,

siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión del polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y en las que

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:145; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:145, en la que

- en la posición 9, la N se ha cambiado a D,

siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmones superficiales;

y en las que

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:167; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:167, en la que

- en la posición 4, la L se ha cambiado a I,

siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 1 aminoácido(s) se una a

TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmones superficiales.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR1 es SEQ ID NO:130.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:157; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:157, en la que

- en la posición 8, la T se ha cambiado a I.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR3 es SEQ ID NO:172.

Preferiblemente, el polipéptido que comprende la CDR con 1 diferencia de aminoácidos se une a la TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende las CDR sin la diferencia de 1 aminoácido, siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que

(i) CDR1 es SEQ ID NO:130;

y en las que

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:157; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:157, en la que

- en la posición 8, la T se ha cambiado a I,

siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con 1 diferencia de aminoácidos se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 1 aminoácido, siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y en las que

(iii) CDR3 es la SEQ ID NO:172.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:119-123, 125-127, 129, 132 y 133; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:123; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:134-141, 143-144, 146-156, 159-163; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:153; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:164-166, 169-171, 173-174; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:170.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:119-123, 125-127, 129, 132 y 133; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:123, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:134-141, 143-144, 146-156, 159-163; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:153, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:164-166, 169-171, 173-174; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:170, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que: CDR1 está representada por SEQ ID NO:123, CDR2 está representada por SEQ ID NO:153 y CDR3 está representada por SEQ ID NO:170.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV se elige del grupo que consiste en SEQ ID NO:1-104.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV bloquea de manera cruzada la unión al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los polipéptidos con SEQ ID NO:1-104.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV se bloquea de manera cruzada para que no se una al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los polipéptidos con SEQ ID NO:1-104.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente

documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:124, 128 y 131; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:124; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:142 y 145; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:145; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:167 y 168; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:167.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:124, 128 y 131; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:124, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:142 y 145; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:145, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:167 y 168; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:167, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que: CDR1 está representada por SEQ ID NO:124, CDR2 está representada por SEQ ID NO:145 y CDR3 está representada por SEQ ID NO:167.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente

documento, en el que dicho primer ISV se elige del grupo que consiste en SEQ ID NO:105-115.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV bloquea de manera cruzada la unión al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los polipéptidos con SEQ ID NO:105-115.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que el primer ISV se bloquea de manera cruzada para que no se una al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los polipéptidos con SEQ ID NO:105-115.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:130; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:130; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:157-158; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:157; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:172; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:172.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:130; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:130, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:157-158; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:157, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:172; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la

secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:172, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que: CDR1 está representada por SEQ ID NO:130, CDR2 está representada por SEQ ID NO:157 y CDR3 está representada por SEQ ID NO:172.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV se elige del grupo que consiste en SEQ ID NO:116-118.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV bloquea de manera cruzada la unión al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los polipéptidos con SEQ ID NO:116-118.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento en el que dicho primer ISV se bloquea de manera cruzada para que no se una al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los polipéptidos con SEQ ID NO:116-118.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, que comprende además un tercer ISV, que tiene alta afinidad por/se une a un segundo antígeno en una célula diana, en el que dicho segundo antígeno es diferente de dicho primer antígeno.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer antígeno en una célula diana es un antígeno tumoral, preferiblemente un antígeno asociado a tumores (TAA).

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho segundo antígeno en una célula diana es un antígeno tumoral, preferiblemente un antígeno asociado a tumores (TAA).

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer antígeno y dicho segundo antígeno están presentes en la misma célula diana.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer antígeno y dicho segundo antígeno están presentes en células diana diferentes.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dichos TAA se eligen independientemente del grupo que consiste en proteoglicano de sulfato de condroitina (MCSP) asociado a melanoma, receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), proteína de activación de fibroblastos (FAP), MART-1, antígeno carcinoembrionario (CEA), gp100, MAGE-1, HER-2, antígenos de Lewis^{Y}, CD123, CD44, CLL-1, CD96, CD47, CD32, CXCR4, Tim-3, CD25, TAG-72, Ep-CAM, PSMA, PSA, GD2, GD3, CD4, CD5, CD19, CD20, CD22, CD33, CD36, CD45, CD52, CD147, receptores de factores de crecimiento incluyendo ErbB3 y ErbB4, receptores de citocinas incluyendo la cadena gamma del receptor de interleucina-2 (antígeno CD132), cadena alfa del receptor de interleucina-10 (IL-10R-A), cadena beta del receptor de interleucina-10 (IL-10R-B), cadena beta-1 del receptor de interleucina-12 (IL-12R-beta1), cadena beta-2 del receptor de interleucina-12 (receptor de IL-12 beta-2), cadena alfa-1 del receptor de interleucina-13 (IL-13R-alfa-1) (antígeno CD213a1), cadena alfa-2 del receptor de interleucina-13 (proteína de unión a interleucina-13), receptor de interleucina-17 (receptor de IL-17), receptor de interleucina-17B (receptor de IL-17B), precursor del receptor de interleucina 21 (IL-21R), receptor de interleucina-1 tipo I (IL-1R-1) (CD121a); receptor de interleucina-1 tipo II (IL-1R-beta) (CDw121b), proteína antagonista del receptor de interleucina-1 (IL-1ra), cadena alfa del receptor de interleucina-2 (antígeno CD25), cadena beta del receptor de interleucina-2 (antígeno CD122), cadena alfa del receptor de interleucina-3 (IL-3R-alfa) (antígeno CD123), CD30, IL23R, IGF-1R, IL5R, IgE, CD248 (endosialina), CD44v6, gpA33, Ron, Trop2, PSCA, claudina 6, claudina 18.2, CLEC12A, CD38, ephA2, c-Met, CD56, MUC16, EGFRvIII, AGS-16, CD27L, nectina-4, SLITRK6, mesotelina, receptor de folato, factor tisular, axl, glipicano-3, CA9, Cripto, CD138, CD37, MUC1, CD70, receptor de péptido liberador de gastrina, PAP, CEACAM5, CEACAM6, CXCR7, N-cadherina, FXYD2 gamma a, CD21, CD133, Na/K-ATPasa, mIgM (IgM unida a membrana), mIgA (IgA unida a membrana), Mer, Tyro2, CD120, CD95, CA 195, DR5, DR6, DcR3 y CAIX, incluidas las variantes polimórficas e isoformas relacionadas.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho TAA es CD20 (UniProt 11836), HER2 (Uniprot P04626), EGFR, CEA, variantes

polimórficas o isoformas de los mismos.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer antígeno y dicho segundo antígeno se eligen del grupo que consiste en:

- EGFR como primer antígeno y CEA como segundo antígeno;
- CD19 como primer antígeno y CD20 como segundo antígeno;
- CD19 como primer antígeno y CD22 como segundo antígeno;
- CD123 como primer antígeno y Tim-3 como segundo antígeno;
- CD123 como primer antígeno y CD69 como segundo antígeno.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, que comprende además un resto de unión a proteínas séricas.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho resto de unión a proteínas séricas se une a albúmina sérica.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho resto de unión a proteínas séricas es un ISV que se une a albúmina sérica.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ISV que se une a albúmina sérica consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente), en las que CDR1 es SFGMS (SEQ ID NO: 481), CDR2 es SISGSGSDTLYADSVKG (SEQ ID NO: 482) y CDR3 es GGSLSR (SEQ ID NO: 475), determinándose CDR según la definición de Kabat; y/o en las que CDR1 es GFTFSSFGMS (SEQ ID NO: 472) o GFTFRSFGMS (SEQ ID NO: 473), CDR2 es SISGSGSDTL (SEQ ID NO: 474) y CDR3 es GGSLSR (SEQ ID NO: 475), determinándose CDR según Kontermann 2010.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ISV que se une a albúmina sérica se selecciona de Alb8, Alb23, Alb129, Alb132, Alb11, Alb11 (S112K)-A, Alb82, Alb82-A, Alb82-AA, Alb82-AAA, Alb82-G, Alb82-GG y Alb82-GGG (SEQ ID NO: 400 a 412).

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dichos ISV se unen directamente entre sí o se unen a través de un ligador.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV y/o dicho segundo ISV y/o posiblemente dicho tercer ISV y/o posiblemente dicho ISV que se une a albúmina sérica se unen a través de un ligador.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ligador se elige del grupo que consiste en ligadores de 5GS, 7GS, 9GS, 10GS, 15GS, 18GS, 20GS, 25GS, 30GS y 35GS (SEQ ID NO: 376 a 385).

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho resto de unión a proteínas séricas es un polipéptido no basado en anticuerpos.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, que comprende además PEG.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ISV es un Nanobody, un V_{HH}, un V_{HH} humanizado o un V_H camelizado.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido en el que dicho primer ISV se elige del grupo que consiste en SEQ ID NO:1 a 118.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV se elige del grupo que consiste en SEQ ID NO:1 a 118, y en el que dicho segundo ISV se elige del grupo que consiste en SEQ ID NO: 350-358.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido elegido del grupo que consiste en SEQ ID NO: 292, 295-296, 299-300, 303, 306-343, 387-388, 390, 414, 417-418, 421-422, 425, 428-464, 467-468, 470-471 y

486-487.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido que se une específicamente al dominio constante del receptor de células T (TCR) y que comprende o consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:119-133; o

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO:119-133, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:134-163; o

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO:134-163, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:164-174; o

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO:164-174, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

La presente invención también proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:119-123, 125-127, 129, 132 y 133; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:123, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:134-141, 143-144, 146-156, 159-163; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:153, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:164-166, 169-171, 173-174; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:170, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:123; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2, 3 ó 4 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:123, en las que

- en la posición 2, el D se ha cambiado a, S, E o G;
- en la posición 4, la H se ha cambiado a Y;
- en la posición 5, la K se ha cambiado a L;
- en la posición 6, la I se ha cambiado a L;
- en la posición 8, la F se ha cambiado a I o V; y/o
- en la posición 10, la G se ha cambiado a S.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:153; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2, 3, 4 ó 5 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:153, en las que

- en la posición 1, H se ha cambiado a T o R;
- en la posición 3, la S se ha cambiado a T o A;
- en la posición 5, la G se ha cambiado a S o A;
- en la posición 7, la Q se ha cambiado a D, E, T, A o V;
- en la posición 8, la T se ha cambiado a o V; y/o
- en la posición 9, el D se ha cambiado a, Q, N, V o S.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que CDR3 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:170; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2, 3 ó 4 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:170, en las que

- en la posición 1, la F se ha cambiado a Y, L o G;
- en la posición 4, la I se ha cambiado a L;
- en la posición 5, la Y se ha cambiado a W; y/o
- en la posición 8, el D se ha cambiado a N o S.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente

documento, en el que CDR1 está representada por SEQ ID NO:123, CDR2 está representada por SEQ ID NO:153 y CDR3 está representada por SEQ ID NO:170.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:124, 128 y 131; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:124, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:142 y 145; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:145, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:167 y 168; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:167, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:124; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1 ó 2 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:124, en las que

- en la posición 2, el E se ha cambiado a Q; y/o
- en la posición 6, la I se ha cambiado a V.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:145; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:145, en la que

- en la posición 9, la N se ha cambiado a D.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que CDR3 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:167; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:167, en la que

- en la posición 4, la L se ha cambiado a I.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que CDR1 está representada por SEQ ID NO:124, CDR2 está representada por SEQ ID NO:145 y CDR3 está representada por SEQ ID NO:167.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:130; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:130, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:157-158; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:157, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:172; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:172, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que CDR1 se elige de SEQ ID NO:130.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:157; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:157, en la que

- en la posición 8, la T se ha cambiado a I.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que CDR3 se elige de SEQ ID NO:172.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que CDR1 está representada por SEQ ID NO:130, CDR2 está representada por SEQ ID NO:157 y CDR3 está representada por SEQ ID NO:172.

En un aspecto adicional, la invención proporciona un polipéptido que se une específicamente al antígeno carcinoembrionario (CEA) y que comprende o consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO: 361 (GDTYGSYWMG); o

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 361, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a CEA con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO: 363 (AINRGGGYTV); o

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 363, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a CEA con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO: 365 (SGVLGGLHEDWFNY); o

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 365, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a CEA con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que CDR1 está representada por SEQ ID NO: 361, CDR2 está representada por SEQ ID NO: 363 y CDR3 está representada por SEQ ID NO: 365.

En otro aspecto, la invención proporciona un polipéptido que se une específicamente a CD20 y que comprende o consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO: 362 (GGTFSSYTMG); o

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 362, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a CD20 con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO: 364 (EVRWGGVTT); o

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 364, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a CD20 con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO: 366 (VRQMYMTVVPDY); o

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 366, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a CD20 con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón

superficial.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que CDR1 está representada por SEQ ID NO: 362, CDR2 está representada por SEQ ID NO: 364 y CDR3 está representada por SEQ ID NO: 366.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, que es un Nanobody, un V_{HH}, un V_{HH} humanizado o un V_H camelizado.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, que comprende además un resto de unión a proteínas séricas.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho resto de unión a proteínas séricas se une a albúmina sérica.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho resto de unión a proteínas séricas es un ISV que se une a albúmina sérica.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ISV que se une a albúmina sérica consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente), en las que CDR1 es SFGMS (SEQ ID NO: 481), CDR2 es SISGSGSDTLYADSVKG (SEQ ID NO: 482) y CDR3 es GGSLSR (SEQ ID NO: 475), determinándose CDR según la definición de Kabat; y/o en las que CDR1 es GFTFSSFGMS (SEQ ID NO: 472) o GFTFRSFGMS (SEQ ID NO: 473), CDR2 es SISGSGSDTL (SEQ ID NO: 474) y CDR3 es GGSLSR (SEQ ID NO: 475); determinándose CDR según Kontermann 2010.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ISV que se une a albúmina sérica se selecciona de Alb8, Alb23, Alb129, Alb132, Alb11, Alb11 (S112K)-A, Alb82, Alb82-A, Alb82-AA, Alb82-AAA, Alb82-G, Alb82-GG y Alb82-GGG (SEQ ID NO: 400 a 412).

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ISV se une directamente o se une a través de un ligador.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ligador se elige del grupo que consiste en ligadores de 5GS, 7GS, 9GS, 10GS, 15GS, 18GS, 20GS, 25GS, 30GS y 35GS (SEQ ID NO: 376 a 385).

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, que comprende además un resto PEG.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un ácido nucleico o una secuencia de ácido nucleico que codifica para un polipéptido tal como se define en el presente documento.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un vector que comprende un ácido nucleico o una secuencia de ácido nucleico tal como se define en el presente documento.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una célula huésped transformada o transfectada con el ácido nucleico o la secuencia de ácido nucleico tal como se define en el presente documento o con el vector tal como se define en el presente documento.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un procedimiento para la producción del polipéptido tal como se describe en el presente documento, comprendiendo dicho procedimiento cultivar una célula huésped tal como se define en el presente documento en condiciones que permiten la expresión del polipéptido tal como se define en el presente documento y recuperar el polipéptido producido del cultivo.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el polipéptido tal como se describe en el presente documento, o el polipéptido producido según el procedimiento tal como se describe en el presente documento.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, o se produce según el procedimiento tal como se describe en el presente documento, para su uso en el tratamiento de un sujeto que lo necesita.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para suministrar un polipéptido profiláctico o terapéutico a una ubicación, tipo de célula o tejido específicos en el cuerpo, comprendiendo el método las etapas de administrar a un sujeto un polipéptido tal como se describe en el presente documento, o producido según al

procedimiento tal como se describe en el presente documento.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido tal como se describe en el presente documento, o producido según el procedimiento tal como se describe en el presente documento, para su uso en la prevención, el tratamiento o la mejora de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en una enfermedad proliferativa, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad infecciosa y una enfermedad autoinmunitaria.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un método para la prevención, el tratamiento o la mejora de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en una enfermedad proliferativa, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad infecciosa y una enfermedad autoinmunitaria, que comprende la etapa de administrar a un sujeto que lo necesita el polipéptido tal como se describe en el presente documento, o producido según un procedimiento tal como se describe en el presente documento.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido para uso en un método para la prevención, el tratamiento o la mejora de una enfermedad tal como se describe en el presente documento, en el que dicha enfermedad proliferativa es cáncer.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido para uso en un método para la prevención, el tratamiento o la mejora de una enfermedad tal como se describe en el presente documento, en el que dicho cáncer se elige del grupo que consiste en carcinomas, gliomas, mesoteliomas, melanomas, linfomas, leucemias, adenocarcinomas: cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer de cuello uterino, glioblastoma, mieloma múltiple (incluida la gammapatía monoclonal de significación indeterminada, mieloma asintomático y sintomático), cáncer de próstata y linfoma de Burkitt, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer de páncreas, cáncer hepatobiliar, cáncer de vesícula biliar, cáncer de intestino delgado, cáncer de recto, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de pene, cáncer de uretra, cáncer de testículo, cáncer de vagina, cáncer uterino, cáncer de tiroides, cáncer de paratiroides, cáncer suprarrenal, cáncer de páncreas endocrino, cáncer carcinoide, cáncer de hueso, cáncer de piel, retinoblastomas, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Castleman multicéntrica o linfoma primario de cavidades asociado al SIDA, tumores neuroectodérmicos, rabdomiosarcoma; así como cualquier metástasis de cualquiera de los cánceres anteriores, así como indicaciones distintas de cáncer tales como poliposis nasal.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un polipéptido para uso en un método para la prevención, el tratamiento o la mejora de una enfermedad tal como se describe en el presente documento, en el que el tratamiento es un tratamiento combinado.

En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un kit que comprende un polipéptido tal como se define en el presente documento, un ácido nucleico o una secuencia de ácido nucleico tal como se define en el presente documento, un vector tal como se define en el presente documento o una célula huésped tal como se define en el presente documento.

Leyendas de las figuras

Figura 1: Evaluación de la expresión de TCR/CD3 humano y CD3 humano en líneas celulares CHO, HEK293 y Llana transfectadas usando anticuerpo anti-TCR α/β humano 100 nM (clon BW242/412) (negro) y anticuerpo anti-CD3 humano 100 nM (clon OKT-3) (gris). Se representó gráficamente el valor de MCF (fluorescencia media del canal) para cada línea celular. El eje X representa el tipo de célula y los genes transfectados; CD3 indica transfección con el complejo CD3 (cadenas épsilon, delta, gamma y zeta), huTCR indica transfección con las cadenas α/β de TCR, en el que el dominio variable usado está entre paréntesis.

Figura 2: Evaluación de la calidad de proteínas TCR α/β de macaco recombinantes solubles usando clon R73 de anticuerpo anti-TCR α/β de rata/primate no humano: anticuerpos anti-TCR α/β humano (círculos rellenos) y un Nanobody anti-lisozima huevo irrelevante (cAblys) (círculos en blanco). Se representó gráficamente el valor de DO frente a la concentración del Nanobody.

Figuras 3A y 3B: Unión dependiente de la dosis de Nanobodies anti-TCR monovalentes a TCR/CD3 humano expresado en células CHO-K1 (figura 3A) y a las células T humanas primarias (figura 3B). Se representó gráficamente el valor de MCF (fluorescencia media del canal) frente a la concentración del Nanobody.

Figura 4: Unión dependiente de la dosis de Nanobodies anti-TCR monovalentes a TCR(2IAN)/CD3 humano de HEK293H (círculos rellenos), CD3 humano de HEK293H (cruces) y a la línea celular de referencia HEK293H (círculos en blanco). Se representó gráficamente el valor de MCF (fluorescencia media del canal) frente a la concentración del Nanobody.

Figura 5: Unión dependiente de la dosis de Nanobodies anti-TCR monovalentes (círculos rellenos) y un Nanobody

irrelevante (círculos en blanco) a proteína de cremallera-TCR α/β(2XN9) humana recombinante soluble. Se representó gráficamente la DO a 450 nm frente a la concentración del Nanobody.

Figuras 6A y 6B: Análisis cinético de T01700055A02 (figura 6A) y T01700056G05 (figura 6B) sobre la interacción de proteína de cremallera-TCR α/β(2XN9) humana recombinante soluble a través de interferometría de biocapa en un instrumento Octet RED384. Las concentraciones de analito aplicadas fueron: 1000, 333, 111, 37, 12,3, 4,1 y 1,4 nM. Los ajustes de Langmuir a los datos cinéticos se indican con líneas de color negro, mientras que los sensogramas se presentan con líneas de color gris.

Figuras 7A y 7B: Datos de activación de células T de Nanobodies anti-TCR monovalentes acoplados a perlas (figura 7A). Datos de activación de células T de Nanobodies anti-TCR monovalentes presentados en disolución (figura 7B). Se midió la activación monitorizando la regulación por incremento de CD69 en células T humanas primarias. Se representó gráficamente el valor de MCF (fluorescencia media del canal) para cada Nanobody.

Figura 8: Unión de una serie de dilución de polipéptidos multiespecíficos CD20xTCR (línea continua) y TCRxCD20 (línea discontinua) a TCR/CD3 humano expresado en células CHO-K1 (A), células T humanas primarias (B) y células de Ramos (C). Se representó gráficamente el valor de MCF (fluorescencia media del canal) frente a la concentración de los polipéptidos.

Figuras 9A y 9B: Efecto de destrucción dependiente de la dosis de polipéptidos biespecíficos de unión CD20xTCR (línea continua) y de unión TCRxCD20 (línea discontinua) en un ensayo de destrucción de células B de Ramos mediada por células T humanas basado en citometría de flujo. Se representó gráficamente el % de muerte celular (% de células positivas para TOPRO) frente a la concentración de los polipéptidos. (figura 9A). Efecto de destrucción dependiente de la dosis de polipéptidos biespecíficos de unión CD20xTCR (línea continua) en un ensayo de destrucción de células B de Raji mediada por células T humanas basado en citometría de flujo. Se representó gráficamente el % de muerte celular (% de células positivas para TOPRO) frente a la concentración de los polipéptidos (figura 9B).

Figura 10: Unión dependiente de la dosis del Nanobody anti-CD20 en células CD20 humanas de Ramos (símbolos en blanco) y de Raji (símbolos rellenos). Se representó gráficamente el valor de MCF (fluorescencia media del canal) frente a la concentración del Nanobody.

Figuras 11A y 11B: Efecto de destrucción dependiente de la dosis de polipéptidos biespecíficos de unión CD20xTCR (línea continua) y unión TCRxCD20 (línea discontinua) en el ensayo basado en xCELLigence usando células transfectadas con CD20 humano CHO-K1 (figura 11A). Efecto de destrucción dependiente de la dosis de T017000055 en el ensayo basado en xCELLigence usando células transfectadas con CD20 humano CHO-K1 (línea continua, símbolo relleno) y línea celular parental CHO-K1 (círculos en blanco) para ilustrar la destrucción dependiente de TAA (CD20) (figura 11B). Se representó gráficamente el índice celular (IC) frente a la concentración de polipéptidos.

Figura 12: Efecto de destrucción dependiente de la dosis de polipéptidos CD20 x TCR usando un ligador 5GS (cuadrados en blanco), ligador 9GS (círculos en blanco) y un ligador 35GS (símbolos rellenos) en un ensayo de destrucción basado en xCELLigence usando células TCR(2XN9)/CD3 humanas CHO-K1. Se representó gráficamente el índice celular (IC) frente a la concentración de polipéptidos.

Figuras 13A y 13B: Efecto de destrucción dependiente de la dosis de T017000055 (figura 13A) y T017000076 (figura 13B) en un ensayo de destrucción de células B de Ramos mediada por células T humanas basado en citometría de flujo usando diferentes razones de efector (E) con respecto a diana (T) (razón E:T 10:1 - círculos rellenos, razón E:T 5:1 - cuadrados en blanco, razón E:T 2:1 - triángulos rellenos y razón E:T 1:1 - rombos en blanco). Se representó gráficamente el % de muerte celular (% de células positivas para TOPRO) frente a la concentración de los polipéptidos.

Figura 14: Actividad citolítica dependiente del tiempo de polipéptidos de unión CD20/TCR en el ensayo de destrucción mediada por células T humanas primarias purificadas en xCELLigence usando células diana CD20 humanas CHO-K1. El % de lisis específica se representó gráficamente frente a la concentración del constructo. Las diferentes curvas representan el tiempo de análisis después de la adición de las células T.

Figuras 15A-15C: Unión de una dilución en serie de polipéptidos de semivida extendida a TCR/CD3 humano expresado en células CHO-K1 (figura 15A), células T humanas primarias (figura 15B) y células de Ramos (figura 15C). Se representó gráficamente el valor de MCF (fluorescencia media del canal) frente a la concentración de los polipéptidos.

Figuras 16A-16D: Efecto de destrucción dependiente de la dosis de polipéptidos multiespecíficos de unión CD20xTCR frente a polipéptidos de unión CD20xTCRxALB11 en un ensayo de destrucción de células B de Ramos mediada por células T humanas basado en citometría de flujo (figura 16A, figura 16C). Efecto de destrucción dependiente de la dosis de polipéptidos de unión CD20xTCRxALB11 en ausencia o presencia de HSA 30 μM en un

ensayo de destrucción de células B de Ramos mediada por células T humanas basado en citometría de flujo (figura 16B, figura 16D). Se representó gráficamente el % de muerte celular (% de células positivas para TOPRO) frente a la concentración de los polipéptidos.

Figura 17: Unión de Nanobody anti-HER2 monovalente 100 nM (5F07) a líneas celulares SKBR3, MCF-7 y MDA-MB-468 en citometría de flujo para evaluar los niveles de expresión de HER2. Se representó gráficamente el valor de MCF (fluorescencia media del canal) para cada línea celular.

Figuras 18A-18C: Efecto de destrucción dependiente de la dosis de polipéptidos de unión TCRxHER2 multiespecíficos (línea discontinua) y polipéptidos de unión HER2xTCR multiespecíficos (línea continua) en un ensayo de destrucción mediada por células T humanas basado en xCELLigence usando células SKBR-3 (figura 18A), células MCF-7 (figura 18B) y células MDA-MB-468 (figura 18C). Se analizaron los datos después de 18 h. Se representó gráficamente el índice celular (CI) frente a la concentración de los polipéptidos.

Figura 19: Producción de INF-γ dependiente de la dosis por células T humanas después de la incubación de células positivas para HER2 con polipéptidos de unión TCRxHER2 multiespecíficos (línea discontinua) y polipéptidos de unión HER2xTCR multiespecíficos (línea continua) en un ensayo basado en xCELLigence. Se analizaron los datos después de 72 h de incubación. Se representó gráficamente la DO frente a la concentración de los polipéptidos.

Figura 20: Efecto de destrucción dependiente de la dosis de polipéptidos multiespecíficos de unión CD20xTCR (línea continua) y de unión TCRxCD20 (línea discontinua) en un ensayo de destrucción de células B de Ramos mediada por células T de macaco cangrejero basado en citometría de flujo. Se representó gráficamente el % de muerte celular (% de células positivas para TOPRO) frente a la concentración de los polipéptidos.

Figura 21: Efecto de destrucción dependiente de la dosis de polipéptidos biespecíficos de unión CD20xTCR (línea continua) y de unión TCRxCD20 (línea discontinua) en el ensayo de destrucción de CD20 humano CHO-K1 mediada por células T de macaco cangrejero basado en xCELLigence. Se representó gráficamente el IC frente a la concentración de polipéptidos.

Figura 22: Unión dependiente de la dosis de Nanobodies monovalentes anti-TCR (círculos rellenos) y un Nanobody irrelevante (círculos en blanco) a la proteína de cremallera-TCR α/β de macaco cangrejero recombinante soluble. Se representó gráficamente la DO a 450 nm frente a la concentración del Nanobody.

Figuras 23A y 23B: Análisis cinético de T0170055A02 (figura 23A) y T0170056G05 (figura 23B) sobre la interacción de proteína de cremallera-TCRα/β de macaco cangrejero recombinante soluble a través de interferometría de biocapa en un instrumento Octet RED384. Las concentraciones de analito aplicadas fueron: 1000, 333, 111, 37, 12,3, 4,1 y 1,4 nM. Los ajustes de Langmuir a los datos cinéticos se indican con líneas de color negro, mientras que los sensogramas se presentan con líneas de color gris.

Figuras 24A y 24B: Efecto de destrucción dependiente de la dosis de T017000076 (constructo multiespecífico de unión CD20xTCR) frente a T017000093 (constructo de unión CD20xTCRxALB11) en un ensayo de destrucción de células B de Ramos mediada por células T de macaco cangrejero basado en citometría de flujo (figura 24A). Destrucción dependiente de la dosis de T017000093 en presencia de HSA 30 μM en un ensayo de destrucción de células B de Ramos mediada por células T basado en citometría de flujo. (figura 24B). Se representó gráficamente el % de muerte celular (% de células positivas para TOPRO) frente a la concentración del Nanobody.

Figura 25: Efecto de destrucción dependiente de la dosis del constructo multiespecífico de unión CD20xTCR frente al constructo de unión CD20xTCRxALB11 y frente al constructo de unión CD20xTCRxALB11 en presencia de HSA 30 μM en un ensayo basado en xCELLigence de células transfectadas con CD20 humano CHO-K1 mediado por células T de macaco cangrejero. Se representó gráficamente el índice celular (CI) frente a la concentración de Nanobody.

Figura 26: Efecto de destrucción dependiente de la dosis de polipéptidos de unión multiespecíficos de unión TCRxHER2 (línea discontinua) y polipéptidos de unión HER2xTCR multiespecíficos (línea continua) en un ensayo de destrucción de tumor SKBR-3 positivo para HER2 mediada por células T de macaco cangrejero basado en xCELLigence. Se analizaron los datos después de 40 h de incubación. Se representó gráficamente el índice celular (IC) frente a la concentración del Nanobody.

Figura 27: Diseño del estudio para el modelo de Ramos tal como se describe en el ejemplo 19. Se inyectaron células de Ramos por vía intravenosa en ratones el día 1 (D1). Se inyectaron PBMC por vía intraperitoneal en animales el día 3 (D3). Se trataron los ratones desde D3 hasta el día 7 (D7) con T017000083 (TCR/CD20) por vía i.v. una vez al día durante 5 días (Q1Dx5) o T017000088 (polipéptido multiespecífico irrelevante) por vía i.v. Q1Dx5.

Figura 28: Recuento absoluto de células B de Ramos en escala logarítmica en médula ósea (figura 28A) y bazo (figura 28B). Recuento absoluto de células B derivadas de PBMC en escala logarítmica en médula ósea (figura

28C) y bazo (figura 28D). Se muestran los resultados individuales de los animales. El número de células B se muestra en función de los diferentes grupos de tratamiento. Los círculos en blanco en la parte superior de los gráficos muestran qué dosis activas fueron diferentes de manera estadísticamente significativa del polipéptido irrelevante (T017000088) según las pruebas F del análisis de ANOVA de efectos mixtos. Todos los efectos en el bazo son estadísticamente significativos al nivel de significación del 5%. En particular, el valor del eje Y de 0,001 significa que no se cuentan células.

Figura 29: Diseño del estudio para el modelo de reducción de células B de PBMC tal como se describe en el ejemplo 20. Se inyectaron PBMC por vía intraperitoneal a animales el día 3 (D3). Se trataron los ratones desde D3 hasta el día 7 (D7) con T017000083 (TCR/CD20) por vía i.v. una vez al día durante 5 días (Q1Dx5) o T017000088 (polipéptido irrelevante) por vía i.v. Q1Dx5.

Figura 30: Recuento absoluto de células B derivadas de PBMC en escala logarítmica. Se muestran los resultados individuales de los animales. El número de células B se muestra en función de los diferentes grupos de tratamiento. En particular, el valor del eje Y de 0,001 significa que no se cuentan células.

Figuras 31A y 31B: Determinación del nivel de expresión de EGFR (figura 31A; con anticuerpo anti-EGFR; Santa Cruz, sc-120 PE) o CEACAM5 (figura 31B; con anticuerpo anti-CEACAM; Sino Biological, 11077-MM02-P) en líneas celulares HER14, Hela, LoVo y LS174-T en citometría de flujo. Se representó gráficamente el valor de MCF (fluorescencia media del canal) para cada línea celular.

Figura 32: Unión dependiente de la dosis de los Nanobodies monovalentes y polipéptidos multiespecíficos a HER14 (A), LS174T (B), células T humanas primarias (C) y células LoVo (D). Se representó gráficamente la intensidad de fluorescencia media del canal frente a la concentración.

Figura 33: Determinación de los niveles de expresión de EGFR y CEACAM5 de líneas celulares HER14, LoVo y LS174T usando 100 nM de los Nanobodies de EGFR y CEACAM en citometría de flujo. Se representó gráficamente el valor de MFI (intensidad de fluorescencia media) para cada línea celular.

Figura 34: Destrucción de células diana LoVo (A, B), LST174T (C, D) y HER14 (E) redirigidas dependientes de la dosis de polipéptidos multiespecíficos por células T efectoras humanas en el ensayo basado en xCELLigence usando una razón de efector con respecto a diana de 15. Se representó gráficamente IC después un tiempo de incubación de 30 h-40 h (A, C) y 50 h-60 h (B, D, E) frente a la concentración de los polipéptidos multiespecíficos. (T017000107 = círculo, T017000109 = cuadrado, T017000110 = triángulo).

Figura 35: Diseño del estudio del modelo Ramos *in vivo* usado en el ejemplo 26. Se inyectaron células de Ramos por vía intravenosa en ratones el día 1 (D1). Se inyectaron PBMC por vía intraperitoneal a los animales el día 3 (D3). Se trataron los ratones desde D3 hasta el día 7 (D7) con T017000088, T017000106, T017000083, T017000104 o T017000105.

Figura 36: Recuento absoluto de células B de Ramos en escala logarítmica en médula ósea (A) y bazo (B). Se muestran los resultados individuales de los animales. El número de células B de Ramos se muestra en función de los diferentes grupos de tratamiento. Las estrellas en la parte superior del gráfico muestran qué dosis activas fueron diferentes de manera estadísticamente significativa del Nanobody de control (T017000088 o T017000106) según las pruebas F del análisis de ANOVA de efectos mixtos. Todos los efectos son estadísticamente significativos a un nivel de significación del 5%.

Figura 37: Recuento absoluto de células B derivadas de PBMC en escala logarítmica en médula ósea (A) y bazo (B). Se muestran los resultados individuales de los animales. El número de células B derivadas de PBMC se muestra en función de los diferentes grupos de tratamiento. Las estrellas en la parte superior del gráfico muestran qué dosis activas fueron diferentes de manera estadísticamente significativa del Nanobody de control (T017000088 o T017000106) según las pruebas F del análisis de ANOVA de efectos mixtos. Todos los efectos son estadísticamente significativos a un nivel de significación del 5%.

Figura 38: Destrucción de células diana SKBR3 redirigidas dependiente de la dosis de T017000102 por células T efectoras humanas aisladas del donante 932 (A), células T CD4+ humanas aisladas del donante 941 (B) y células T CD8+ humanas aisladas del donante 941 (C) en el ensayo basado en xCELLigence usando una razón de efector con respecto a diana de 15. Se representó gráficamente el IC después de un tiempo de incubación de 40 h frente a la concentración del polipéptido multiespecífico.

Figura 39: Activación de células T dependiente de la dosis de células T efectoras humanas aisladas del donante 932 (A, D), células T CD4+ humanas aisladas del donante 941 (B, E) y células T CD8+ humanas aisladas del donante 941 (C, F) por T017000102 en una configuración de destrucción de células diana SKBR3 redirigidas. Se midió la activación monitorizando la regulación por incremento de CD69 (A, B, C) y la regulación por incremento de CD25 (D, E, F). Se representó gráficamente la intensidad de fluorescencia media (MFI) frente a la concentración.

Figura 40: Producción de citocinas dependiente de la dosis por células T efectoras humanas aisladas del donante 932 (A, D), células T CD4+ humanas aisladas del donante 941 (B, E) y células T CD8+ humanas aisladas del donante 941 (C, F) por T017000102 en una configuración de destrucción de células diana SKBR3 redirigidas. Se midió la producción de INF-γ humano (A, B, C) e IL-6 humana (D, E, F) después de 72 h de incubación. Se representó gráficamente la concentración medida de INF-γ humano e IL-6 humana (en pg/ml) frente a la concentración del Nanobody.

Figura 41: Unión dependiente de la dosis del constructo HLE T017000108 a HER14 (A), LS174T (B), células T humanas primarias (C) y células LoVo (D). Se representó gráficamente la intensidad de fluorescencia media (MFI) frente a la concentración.

Figura 42: Destrucción de células diana LS174T redirigidas dependiente de la dosis de T017000107 (línea continua) y T017000108 (línea discontinua) por células T efectoras humanas en el ensayo basado en xCELLigence usando una razón de efector con respecto a diana de 15. Se representó gráficamente el IC después de un tiempo de incubación de 48 h frente a la concentración de los polipéptidos multiespecíficos.

Descripción detallada de la invención

Los presentes inventores se dieron cuenta de que los formatos que ponen juntas células T y células tumorales para inducir una respuesta inmunitaria deben cumplir con requisitos diversos y frecuentemente opuestos. El formato debe ser ampliamente aplicable. En particular, el formato debe ser útil preferiblemente en una amplia gama de pacientes y preferiblemente también contra una amplia gama de tumores. El formato debe ser preferiblemente seguro y sólo debe seleccionar como diana las células pretendidas. Además, el formato debe ser preferiblemente lo suficientemente pequeño como para penetrar fácilmente en tejidos y tumores, mientras que, por otro lado, el formato debe ser cómodo para el paciente. Por ejemplo, el formato debe tener una semivida extendida, de modo que el formato no se elimine instantáneamente tras la administración por aclaramiento renal. Sin embargo, ampliar la semivida no debe introducir preferiblemente actividad fuera de la diana y efectos secundarios o limitar la penetración en tejidos y tumores. Además, se reconoció que las células tumorales crean a menudo mecanismos de escape mediante la regulación por disminución de antígenos seleccionados como diana dentro de una terapia. Por consiguiente, en una versión preferida adicional, el formato debe seleccionar como diana simultáneamente múltiples antígenos.

La presente invención cumple al menos uno de estos requisitos.

En particular, se planteó la hipótesis de que los dominios variables únicos de inmunoglobulina (ISV) serían, en principio, candidatos ideales, puesto que son lo suficientemente pequeños como para penetrar fácilmente en el tejido (tumoral) y pueden combinarse con otros ISV como elementos estructurales. A continuación, los ISV dirigidos contra los dominios de TCR constantes deben tener una amplia aplicabilidad. A diferencia de los dominios de TCR variables, estos dominios de TCR constantes muestran una menor variabilidad de secuencia y, por consiguiente, deben ser útiles en una amplia gama de pacientes.

Inesperadamente, resultó ser extremadamente difícil generar ISV a través de la inmunización en llamas contra los dominios constantes de TCR. O no se desarrolló una respuesta inmunitaria significativa, o los ISV generados se dirigieron contra los dominios de TCR variables. Sólo al implementar un método de inmunización y detección llevado a cabo rigurosamente usando diferentes células y secuencias para la inmunización y el refuerzo, así como también usando diferentes proteínas de detección, los inventores pudieron aislar ISV contra los dominios de TCR constantes. Aunque sólo se identificaron tres grupos de ISV relacionados, estos ISV tenían una gama inesperada de características ventajosas. En primer lugar, inesperadamente los ISV fueron ampliamente aplicables, es decir, los ISV de TCR fueron capaces de unirse a células T de diferentes donantes con alta afinidad. Formateados en un polipéptido multiespecífico, los ISV de TCR permitieron la destrucción de células tumorales con diferentes antígenos asociados a tumores. Por tanto, los ISV de TCR pueden usarse contra una multitud de cánceres. Además, los polipéptidos multiespecíficos que comprenden los ISV de TCR permanecieron activos cuando se unieron a la albúmina. Esto contribuye a un perfil PK favorable y al cumplimiento del paciente, al tiempo que se minimizan los efectos secundarios. Los polipéptidos de la invención sólo mostraron efectos cuando se unieron tanto a la célula T como a la célula diana, lo que es indicativo de su seguridad.

Los presentes inventores consideraron que la selección como diana simultánea de múltiples antígenos reduce la probabilidad de generación de variantes de escape tumoral, por lo que se mejora la actividad terapéutica de la estrategia de participación de células T. Se proporcionan polipéptidos multiespecíficos que comprenden un ISV de TCR combinado con dominios variables únicos de inmunoglobulina contra diferentes antígenos diana y/o diferentes epítopos en un antígeno particular (biparatópico).

Se usan secuencias de inmunoglobulina, tales como anticuerpos y fragmentos de unión a antígeno derivados de los mismos (por ejemplo, dominios variables únicos de inmunoglobulina o ISV) para seleccionar como diana específicamente sus antígenos respectivos en aplicaciones terapéuticas y de investigación. La generación de dominios variables únicos de inmunoglobulina tales como, por ejemplo, VHH o Nanobodies puede implicar la

inmunización de un animal de experimentación tal como una llama, la construcción de bibliotecas de fagos a partir de tejido inmunitario, la selección de fagos que presentan dominios variables únicos de inmunoglobulina de unión a antígeno y la detección de dichos dominios y constructos modificados por ingeniería de los mismos para las especificidades deseadas (documento WO 94/04678) Alternativamente, dominios variables únicos de inmunoglobulina similares tales como, por ejemplo, los dAb pueden generarse seleccionando fagos que presentan dominios variables únicos de inmunoglobulina de unión a antígeno directamente de bibliotecas de células vírgenes o sintéticas y posterior cribado de dichos dominios y constructos modificados por ingeniería de los mismos para detectar las especificidades deseadas (Ward *et al*., Nature, 1989, 341: 544-546; Holt *et al*., Trends Biotechnol., 2003, 21 (11): 484-490; así como, por ejemplo los documentos WO 06/030220, WO 06/003388 y otras solicitudes de patente publicadas de Domantis Ltd.). Desafortunadamente, el uso de anticuerpos monoclonales y/o altamente modificados por ingeniería también conlleva un alto coste de fabricación y puede dar como resultado una penetración tumoral subóptima en comparación con otras estrategias.

La presente invención proporciona polipéptidos multiespecíficos que se unen específicamente al receptor de células T (TCR), con una gama inesperada de características ventajosas. En primer lugar, los polipéptidos son fáciles de fabricar. Además, los ISV son inesperadamente aplicables ampliamente, es decir, los ISV de TCR fueron capaces de unirse a células T de diferentes donantes con alta afinidad. Formateados en un polipéptido multiespecífico, los ISV de TCR permitieron la destrucción de células tumorales con diferentes antígenos asociados a tumores. Por el contrario, no se observó destrucción cuando los polipéptidos no se unieron a células T y a la célula diana, lo que subraya la seguridad de los polipéptidos de la invención. Por tanto, los ISV de TCR pueden usarse contra una multitud de cánceres. Además, los ISV de TCR pueden considerarse seguros. Además, los polipéptidos multiespecíficos que comprenden los ISV de TCR permanecieron activos cuando se unieron a albúmina. Esto contribuirá a un perfil PK favorable y al cumplimiento del paciente, al tiempo que se minimizan los efectos secundarios.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido que comprende un primer y un segundo dominios variables únicos de inmunoglobulina (ISV), en el que el primer ISV tiene alta afinidad por/se une al dominio constante del receptor de células T (TCR) y el segundo ISV tiene alta afinidad por/se une a un antígeno en una célula (célula diana), preferiblemente una célula tumoral. El antígeno es preferiblemente específico para dicha célula diana, tal como, por ejemplo un antígeno asociado a tumores (TAA). El polipéptido multiespecífico de la invención dirige la célula T a la célula, por ejemplo una célula tumoral e induce la activación de células T para permitir que dichas células T inhiban o destruyan dichas células diana, por ejemplo dicha célula tumoral.

Definiciones:

a) A menos que se indiquen o se definan de otro modo, todos los términos usados tienen su significado habitual en la técnica, que estará claro para el experto. Por ejemplo, se hace referencia a los manuales convencionales mencionados en el párrafo a) en la página 46 del documento WO 08/020079.

b) El término “dominio variable único de inmunoglobulina”, usado indistintamente con “dominio variable único” e “ISV”, define moléculas en las que el sitio de unión a antígeno está presente en y formado por un único dominio de inmunoglobulina. Este separa los dominios variables únicos de inmunoglobulina de las inmunoglobulinas “convencionales” o sus fragmentos (tales como Fab, scFv, etc.), en los que dos dominios de inmunoglobulina, en particular dos dominios variables, interaccionan para formar un sitio de unión a antígeno. Normalmente, en las inmunoglobulinas convencionales, un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL) interaccionan para formar un sitio de unión a antígeno. En este caso, las regiones determinantes de complementariedad (CDR) de VH y VL contribuirán al sitio de unión a antígeno, es decir, un total de 6 CDR participarán en la formación del sitio de unión a antígeno. En cambio, el sitio de unión de un dominio variable único de inmunoglobulina está formado por un único dominio VH o VL. Por tanto, el sitio de unión a antígeno de un dominio variable único de inmunoglobulina está formado por no más de tres CDR.

Los términos “dominio variable único de inmunoglobulina”, “dominio variable único” e “ISV” no comprenden inmunoglobulinas convencionales o sus fragmentos que requieren la interacción de al menos dos dominios variables para la formación de un sitio de unión a antígeno. Sin embargo, estos términos sí que comprenden fragmentos de inmunoglobulinas convencionales en los que el sitio de unión a antígeno está formado por un dominio variable único.

El término “dominio variable único de inmunoglobulina” o “ISV” incluye (sin limitación) dominios o fragmentos de unión a antígeno tales como dominios V_{HH} o dominios V_H o V_L, respectivamente. Los términos moléculas de unión a antígeno o proteína de unión a antígeno se usan indistintamente e incluyen también el término Nanobodies. Los dominios variables únicos de inmunoglobulina pueden ser secuencias de dominio variable de cadena ligera (por ejemplo, una secuencia de V_L) o secuencias de dominio variable de cadena pesada (por ejemplo, una secuencia de V_H); más específicamente, pueden ser secuencias de dominio variable de cadena pesada que derivan de un anticuerpo de cuatro cadenas convencional o secuencias de dominio variable de cadena pesada que derivan de un anticuerpo de cadena pesada. Por consiguiente, los dominios variables únicos de inmunoglobulina pueden ser anticuerpos de dominio o secuencias de inmunoglobulina que son adecuadas para su uso como anticuerpos de dominios, anticuerpos de dominio único o secuencias de inmunoglobulina que son adecuadas para su uso como

anticuerpos de dominio único, “dAb” o secuencias de inmunoglobulina que son adecuadas para su uso como dAb o Nanobodies, incluyendo, pero sin limitarse a, secuencias de V_{HH}, secuencias de VHH humanizadas o secuencias de VH camelizadas. La invención incluye secuencias de inmunoglobulina de diferente origen, que comprenden secuencias de inmunoglobulina de ratón, rata, conejo, burro, humano y camélido. El dominio variable único de inmunoglobulina incluye secuencias de inmunoglobulina completamente humanas, humanizadas, de secuencia optimizada de otra manera o quiméricas. El dominio variable único de inmunoglobulina y la estructura de un dominio variable único de inmunoglobulina pueden considerarse, sin limitarse a ello, que se componen de cuatro regiones de entramado o “FR”, a las que se hace referencia en la técnica y en el presente documento como “región de entramado 1” o “FR1”; como “región de entramado 2” o “FR2”; como “región de entramado 3” o “FR3”; y como “región de entramado 4” o “FR4”, respectivamente; regiones de entramado que están interrumpidas por tres regiones determinantes complementarias o “CDR”, a las que se hace referencia en la técnica como “región determinante de complementariedad 1” o “CDR1”; como “región determinante de complementariedad 2” o “CDR2”; y como “región determinante de complementariedad 3” o “CDR3”, respectivamente. Debe observarse que los términos Nanobody o Nanobodies son marcas registradas de Ablynx N.V. y, por tanto, también pueden denominarse Nanobody o Nanobodies, respectivamente.

c) A menos que se indiquen de otro modo, los términos “secuencia de inmunoglobulina”, “secuencia”, “secuencia de nucleótidos” y “ácido nucleico” son tal como se describen en el párrafo b) en la página 46 del documento WO 08/020079.

d) A menos que se indiquen de otro modo, 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*, tal como estará claro para el experto. Se hace referencia de nuevo, por ejemplo, a los manuales convencionales y a los antecedentes de la técnica generales mencionados en el presente documento y a las referencias adicionales citadas en los mismos; así como, por ejemplo las siguientes revisiones, Presta 2006 (Adv. Drug Deliv. Rev. 58 (5-6):640-656), Levin y Weiss 2006 (Mol. Biosyst. 2(1):49-57), Irving *et al.* 2005 (J. Immunol. Methods 248(1-2):31-45), Schmitz *et al.* 2000 (Placenta 21 Supl. A: S106-112, Gonzales *et al.* 2005 (Tumour Biol. 26(1):31-43), que describen técnicas para la modificación por ingeniería de proteínas, tales como la maduración por afinidad y otras técnicas para mejorar la especificidad y otras propiedades deseadas de proteínas tales como inmunoglobulinas.

e) Los residuos de aminoácido se indicarán según el código de aminoácidos convencional de tres letras o una letra. Se hace referencia a la tabla A-2 en la página 48 de la solicitud internacional WO 08/020079 de Ablynx N.V. titulada “Immunoglobulin single variable domains directed against IL-6R and polypeptides comprising the same for the treatment of diseases and disorders associated with IL-6 mediated signalling” (Dominios variables únicos de inmunoglobulina dirigidos contra IL-6R y polipéptidos que comprenden los mismos para el tratamiento de enfermedades y trastornos asociados con la señalización mediada por IL-6).

f) Con el propósito de comparar dos o más secuencias de nucleótidos, el porcentaje de “*identidad de secuencia”* entre una primera secuencia de nucleótidos y una segunda secuencia de nucleótidos puede calcularse o determinarse tal como se describe en el párrafo e) en la página 49 del documento WO 08/020079, tal como dividiendo [*el número de nucleótidos en la primera secuencia de nucleótidos que son idénticos a los nucleótidos en las posiciones correspondientes en la segunda secuencia de nucleótidos*] entre [*el número total de nucleótidos en la primera secuencia de nucleótidos*] y multiplicando por [*100%*], en el que cada deleción, inserción, sustitución o adición de un nucleótido en la segunda secuencia de nucleótidos, en comparación con la primera secuencia de nucleótidos, se considera una diferencia en un único nucleótido (posición); o usando un algoritmo o una técnica informáticos adecuados, de nuevo tal como se describe en el párrafo e) en las páginas 49 del documento WO 08/020079.

g) Con el propósito de comparar dos o más dominios variables únicos de inmunoglobulina u otras secuencias de aminoácidos, por ejemplo los polipéptidos de la invención, etc., el porcentaje de “*identidad de secuencia”* entre una primera secuencia de aminoácidos y una segunda secuencia de aminoácidos (también denominada en el presente documento “*identidad de aminoácidos”*) puede calcularse o determinarse tal como se describe en el párrafo f) en las páginas 49 y 50 del documento WO 08/020079, tal como dividiendo [*el número de residuos de aminoácido en la primera secuencia de aminoácidos que son idénticos a los residuos de aminoácido en las posiciones correspondientes en la segunda secuencia de aminoácidos*] entre [*el número total de residuos de aminoácido en la primera secuencia de aminoácidos*] y multiplicando por [*100%*], en el que cada deleción, inserción, sustitución o adición de un residuo de aminoácido en la segunda secuencia de aminoácidos, en comparación con la primera secuencia de aminoácidos, se considera una diferencia en un único residuo de aminoácido (posición), es decir, como una “diferencia de aminoácido” tal como se define en el presente documento; o usando un algoritmo o una técnica informáticos adecuados, de nuevo tal como se describe en el párrafo f) en las páginas 49 y 50 del documento WO 08/020079.

Además, al determinar el grado de identidad de secuencia entre dos dominios variables únicos de inmunoglobulina, el experto puede tener en cuenta las denominadas sustituciones de aminoácidos “conservativas”, tal como se describe en la página 50 del documento WO 08/020079.

Cualquier sustitución de aminoácidos aplicada a los polipéptidos descritos en el presente documento también puede basarse en el análisis de las frecuencias de variaciones de aminoácidos entre proteínas homólogas de diferentes especies desarrollado por Schulz *et al.* 1978 (Principles of Protein Structure, Springer-Verlag), en los análisis de los potenciales de formación de estructuras desarrollados por Chou y Fasman 1975 (Bioquímica 13: 211) y 1978 (Adv. Enzymol. 47: 45-149), y en el análisis de patrones de hidrofobicidad en proteínas desarrollado por Eisenberg *et al.* 1984 (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:140-144), Kyte y Doolittle 1981 (J Molec. Biol. 157:105-132) y Goldman *et al.* 1986 (Ann. Rev. Biophys. Chem. 15: 321-353). La información sobre la estructura primaria, secundaria y terciaria de los Nanobodies se proporciona en la descripción del presente documento y en los antecedentes de la técnica generales citados anteriormente. Además, con este propósito, la estructura cristalina de un dominio V_{HH} de una llama la facilitan, por ejemplo, Desmyter *et al.* 1996 (Nature Structural Biology, 3: 803), Spinelli *et al.* 1996 (Natural Structural Biology 3: 752-757) y Decanniere *et al.* 1999 (Structure, 7: 361). Más información sobre algunos de los residuos de aminoácido que en dominios V_H convencionales forman la interfaz V_H/ V_L y las posibles sustituciones de camelización en estas posiciones pueden hallarse en la técnica anterior citada anteriormente.

h) Se dice que los dominios variables únicos de inmunoglobulina y las secuencias de ácido nucleico son "*exactamente iguales"* si tienen una identidad de secuencia del 100% (tal como se define en el presente documento) por toda su longitud.

i) Al comparar dos dominios variables únicos de inmunoglobulina, el término "*diferencia de aminoácidos"* se refiere a una inserción, deleción o sustitución de un único residuo de aminoácido en una posición de la primera secuencia, en comparación con la segunda secuencia; entendiéndose que dos dominios variables únicos de inmunoglobulina pueden contener una, dos o más de tales diferencias de aminoácidos.

j) Cuando se dice que una secuencia de nucleótidos o una secuencia de aminoácidos "comprende" otra secuencia de nucleótidos o secuencia de aminoácidos, respectivamente, o "consiste esencialmente en" otra secuencia de nucleótidos o secuencia de aminoácidos, esto tiene el significado facilitado en el párrafo i) en las páginas 51-52 del documento WO 08/020079.

k) El término "en forma esencialmente aislada" tiene el significado facilitado en el párrafo j) en las páginas 52 y 53 del documento WO 08/020079.

l) Los términos "dominio" y "dominio de unión" tienen el significado facilitado en el párrafo k) en la página 53 del documento WO 08/020079.

m) Los términos "determinante antigénico" y "epítopo", que también pueden usarse indistintamente en el presente documento, tienen los significados facilitados en el párrafo l) en la página 53 del documento WO 08/020079.

n) Tal como se describe adicionalmente en el párrafo m) en la página 53 del documento WO 08/020079, una secuencia de aminoácidos (tal como un anticuerpo, un polipéptido de la invención, o generalmente una proteína o un polipéptido de unión a antígeno o un fragmento de los mismos) que puede unirse (específicamente) a, que tiene afinidad por y/o que tiene especificidad por un determinante antigénico, epítopo, antígeno o proteína específicos (o al menos por una parte, un fragmento o epítopo del mismo) se dice que está "*en contra"* o "*dirigido contra"* dicho determinante antigénico, epítopo, antígeno o proteína.

o) El término "*especificidad"* se refiere al número de diferentes tipos de antígenos o determinantes antigénicos a los que puede unirse una molécula de unión a antígeno o una proteína de unión a antígeno particular (tal como un ISV, Nanobody o un polipéptido de la invención). La especificidad de una proteína de unión a antígeno puede determinarse en función de la afinidad y/o avidez.

La afinidad, representada por la constante de equilibrio para la disociación de un antígeno con una proteína de unión a antígeno (K_D o KD), es una medida de la fuerza de unión entre un determinante antigénico, es decir, la diana, y un sitio de unión a antígeno en la proteína de unión a antígeno, es decir, el ISV o Nanobody: cuanto menor es el valor de K_D, más intensa es la fuerza de unión entre un determinante antigénico y la molécula de unión a antígeno (alternativamente, la afinidad también puede expresarse como la constante de afinidad (K_A), que es $1/K_D$). Como estará claro para el experto (por ejemplo, basándose en la divulgación adicional en el presente documento), la afinidad puede determinarse de una manera conocida *per se*, dependiendo del antígeno específico de interés.

La avidez es la afinidad del polipéptido, es decir, el ligando es capaz de unirse a través de dos (o más) farmacóforos (ISV) en los que las interacciones múltiples se sinergizan para mejorar la afinidad "aparente". La avidez es la medida de la fuerza de unión entre el polipéptido de la invención y los antígenos pertinentes. El polipéptido de la invención es capaz de unirse a través de sus dos (o más) elementos estructurales, tales como ISV o Nanobodies, a las al menos dos dianas, en los que las interacciones múltiples, por ejemplo el primer elemento estructural, ISV o Nanobody que se une a la primera diana y el segundo elemento estructural, ISV o Nanobody que se une a la segunda diana, se sinergizan para mejorar la afinidad "aparente". La avidez está relacionada tanto con la afinidad entre un determinante antigénico y su sitio de unión a antígeno en la molécula de unión a antígeno y el número de sitios de unión pertinentes presentes en las moléculas de unión a antígeno. Por ejemplo, y sin limitación, los

polipéptidos que contienen dos o más elementos estructurales, tales como los ISV o Nanobodies dirigidos contra diferentes dianas en una célula pueden unirse (y generalmente lo harán) con mayor avidez que cada uno de los monómeros individuales o elementos estructurales individuales, tales como por ejemplo, los ISV o Nanobodies monovalentes, comprendidos en los polipéptidos de la invención.

Cualquier valor de K_D mayor de 10^{-4} mol/litro (o cualquier valor de K_A inferior a 10^4 M^{-1}) se considera generalmente que indica una unión inespecífica.

Los polipéptidos de la invención comprenden un primer y un segundo elementos estructurales, por ejemplo un primer y segundo ISV, o un primer y segundo Nanobodies. Preferiblemente la afinidad de cada elemento estructural, por ejemplo ISV o Nanobody, se determina individualmente. Dicho de otro modo, la afinidad se determina para el elemento estructural monovalente, ISV o Nanobody, independientemente de los efectos de avidez debidos al otro elemento estructural, ISV o Nanobody, que pueden o no estar presentes. La afinidad por un elemento estructural monovalente, ISV o Nanobody puede determinarse en el elemento estructural monovalente, ISV o Nanobody *per se*, es decir, cuando dicho elemento estructural monovalente, ISV o Nanobody no está comprendido en el polipéptido de la invención. Alternativamente o además, la afinidad por un elemento estructural monovalente, ISV o Nanobody puede determinarse en una diana mientras la otra diana está ausente.

La unión de una proteína de unión a antígeno a un antígeno o determinante antigénico puede determinarse de cualquier manera adecuada conocida *per se* incluyendo, por ejemplo, análisis de Scatchard y/o ensayos de unión competitiva, tales como radioinmunoensayos (RIA), inmunoensayos enzimáticos (EIA) y ensayos de competencia de tipo sándwich, y las diferentes variantes de los mismos conocidas *per se* en la técnica; así como las otras técnicas mencionadas en el presente documento.

La constante de disociación puede ser la constante de disociación real o aparente, tal como estará claro para el experto. Los métodos para determinar la constante de disociación estarán claros para el experto y, por ejemplo, incluyen las técnicas mencionadas en el presente documento. A este respecto, también estará claro que puede que no sea posible medir constantes de disociación de más de 10^{-4} moles/litro o 10^{-3} moles/litro (por ejemplo, de 10^{-2} moles/litro). Opcionalmente, tal como también estará claro para el experto, la constante de disociación (real o aparente) puede calcularse basándose en la constante de asociación (real o aparente) (K_A), mediante la relación [$K_D = 1/K_A$].

La afinidad indica la fuerza o estabilidad de una interacción molecular. La afinidad se facilita comúnmente como por la K_D, o constante de disociación, que tiene unidades de mol/litro (o M). La afinidad también puede expresarse como una constante de asociación, K_A, que es igual a $1/K_D$ y tiene unidades de $(mol/litro)^{-1}$ (o M^{-1}) En la presente memoria descriptiva, la estabilidad de la interacción entre dos moléculas (tales como una secuencia de aminoácidos, un Nanobody o polipéptido de la invención y su diana pretendida) se expresará principalmente en términos de valor de K_D de su interacción; estando claro para el experto que, en vista de la relación $K_A = 1/K_D$, especificar la fuerza de la interacción molecular por su valor de K_D también puede usarse para calcular el valor de K_A correspondiente. El valor de K_D caracteriza la fuerza de una interacción molecular también en un sentido termodinámico, ya que está relacionada con la energía libre (DG) de unión por la conocida relación $DG = RT.\ln(K_D)$ (de manera equivalente $DG = -RT.\ln(K_A)$), donde R es igual a la constante de gases, T es igual a la temperatura absoluta e In indica el logaritmo natural.

La K_D para las interacciones biológicas que se consideran significativas (por ejemplo, específicas) están normalmente en el intervalo de 10^{-10} M (0,1 nM) a 10^{-5} M (10000 nM). Cuanto más fuerte es una interacción, menor es su K_D.

La K_D también puede expresarse como la razón de la constante de velocidad de disociación de un complejo, indicada como k_{off}, con respecto a la velocidad de su asociación, indicada como k_{on} (para que $K_D = k_{off}/k_{on}$ y $K_A = k_{on}/k_{off}$). La velocidad de disociación k_{off} tiene unidades de s^{-1} (donde s es la notación de unidad del SI de segundo). La velocidad de k_{on} tiene unidades de $M^{-1}s^{-1}$. La velocidad de asociación puede variar entre 10^2 $M^{-1}s^{-1}$ y aproximadamente 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, aproximándose a la constante de velocidad de asociación limitada por difusión para las interacciones biomoleculares. La velocidad de disociación está relacionada con la semivida de una interacción molecular dada mediante la relación $t_{1/2} = \ln(2)/k_{off}$. La velocidad de disociación puede variar entre $10^{-6}s^{-1}$ (complejo casi irreversible con una $t_{1/2}$ de varios días) y 1 s^{-1} ($t_{1/2}$ = 0,69 s).

La afinidad de una interacción molecular entre dos moléculas puede medirse a través de diferentes técnicas conocidas *per se*, tal como la bien conocida técnica de biosensores de resonancia de plasmón superficial (SPR) (véase, por ejemplo Ober *et al.* 2001, Intern. Immunology, 13:1551-1559). El término “resonancia de plasmón superficial”, tal como se usa en el presente documento, se refiere a un fenómeno óptico que permite el análisis de interacciones bioespecíficas en tiempo real mediante la detección de alteraciones en las concentraciones de proteínas dentro de una matriz de biosensor, donde una molécula se inmoviliza en el chip de biosensor y la otra molécula se hace pasar sobre la molécula inmovilizada en condiciones de flujo que producen mediciones de k_{on}, k_{off} y, por tanto, valores de K_D (o K_A). Esto puede realizarse, por ejemplo, usando el conocido sistema BIAcore® (BIAcore International AB, una compañía de GE Healthcare, Uppsala, Suecia y Piscataway, NJ). Para descripciones

adicionales, véanse Jonsson *et al.* 1993 (Ann. Biol. Clin. 51:19-26), Jonsson *et al.* 1991 (Biotechniques 11: 620-627), Johnsson *et al.* 1995 (J. Mol. Recognit. 8:125-131) y Johnnson *et al.* 1991 (Anal. Biochem. 198: 268-277).

Otra técnica de biosensores bien conocida para determinar las afinidades de las interacciones biomoleculares es la interferometría de biocapa (BLI, por sus siglas en inglés) (véase, por ejemplo Abdiche *et al.* 2008, Anal. Biochem. 377: 209-217). El término "interferometría de biocapa" o "BLI", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una técnica óptica sin marcador que analiza el patrón de interferencia de la luz reflejada desde dos superficies: una capa de referencia interna (haz de referencia) y una capa de proteína inmovilizada en la punta del biosensor (haz de señal). Un cambio en el número de moléculas unidas a la punta del biosensor provoca un desplazamiento en el patrón de interferencia, notificado como un desplazamiento de longitud de onda (nm), cuya magnitud es una medida directa del número de moléculas unidas a la superficie de la punta del biosensor. Dado que las interacciones pueden medirse en tiempo real, pueden determinarse las velocidades de asociación y disociación y afinidades. BLI puede realizarse, por ejemplo, usando los conocidos sistemas Octet® (ForteBio, una división de Pall Life Sciences, Menlo Park, EE.UU.).

Alternativamente, las afinidades pueden medirse en el ensayo de exclusión cinética (KinExA) (véase, por ejemplo Drake *et al.* 2004, Anal. Biochem., 328: 35-43), usando la plataforma KinExA® (Sapidyne Instruments Inc, Boise, EE.UU.). El término "KinExA", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un método basado en disolución para medir la afinidad de unión en equilibrio verdadera y la cinética de las moléculas no modificadas. Se hacen pasar disoluciones equilibradas de un complejo anticuerpo/antígeno sobre una columna con perlas recubiertas previamente con antígeno (o anticuerpo), permitiendo que el anticuerpo libre (o antígeno) se una a la molécula recubierta. La detección del anticuerpo (o antígeno) así capturado se logra con una proteína marcada con fluorescencia que se une al anticuerpo (o antígeno).

También estará claro para el experto que la K_D medida puede corresponder a la K_D aparente si el procedimiento de medición influye de alguna manera en la afinidad de unión intrínseca de las moléculas implicadas, por ejemplo, por artefactos relacionados con el recubrimiento en el biosensor de una molécula. Además, una K_D aparente puede medirse si una molécula contiene más de un sitio de reconocimiento para la otra molécula. En tal situación, la afinidad medida puede verse afectada por la avidez de la interacción por las dos moléculas.

Otro enfoque que puede usarse para evaluar la afinidad es el procedimiento ELISA (ensayo de inmunosorción ligado a enzimas) de 2 etapas de Friguet *et al.* 1985 (J. Immunol. Methods, 77: 305-19). Este método establece una medición del equilibrio de unión en fase de disolución y evita posibles artefactos relacionados con la adsorción de una de las moléculas sobre un soporte como de plástico.

Sin embargo, la medición precisa de K_D puede ser bastante laboriosa y, como consecuencia, a menudo se determinan valores de K_D aparente para evaluar la fuerza de unión de dos moléculas. Debe observarse que siempre y cuando todas las mediciones se realicen de manera sistemática (por ejemplo, manteniendo las condiciones del ensayo sin cambios) pueden usarse mediciones de K_D aparente como una aproximación de la K_D verdadera y, por tanto, en el presente documento, K_D y K_D aparente deben tratarse con igual importancia o relevancia.

Finalmente, debe observarse que en muchas situaciones el científico experimentado puede juzgar que es conveniente determinar la afinidad de unión en relación con alguna molécula de referencia. Por ejemplo, para evaluar la fuerza de unión entre las moléculas A y B, puede usarse, por ejemplo una molécula de referencia C que se sepa que se une a B y que esté marcada adecuadamente con un grupo fluoróforo o cromóforo u otro resto químico, tal como biotina para una fácil detección en un ELISA o FACS (*Fluorescent activated cell sorting*, clasificación de células activadas por fluorescencia) u otro formato (el fluoróforo para la detección de fluorescencia, el cromóforo para la detección de absorción de luz, la biotina para la detección de ELISA mediada por estreptavidina). Normalmente, la molécula de referencia C se mantiene a una concentración fija y la concentración de A se varía para una concentración o cantidad dada de B. Como resultado, se obtiene un valor de CI50 correspondiente a la concentración de A la que la señal medida para C en ausencia de A se reduce a la mitad. Siempre que se conozca la $K_{D\ ref}$, la K_D de la molécula de referencia, así como la concentración total c_{ref} de la molécula de referencia, la K_D aparente para la interacción A-B puede obtenerse a partir de la siguiente fórmula: $K_D = CI50/(1 + c_{ref}/ K_{D\ ref})$. Obsérvese que si $c_{ref} << K_{D\ ref}$, $K_D \approx CI50$. Siempre que la medición de la CI50 se realice de manera sistemática (por ejemplo, manteniendo c_{ref} fija) para los agentes de unión que se comparan, la CI50 puede evaluar la fuerza o la estabilidad de una interacción molecular y esta medición se considera equivalente a K_D o a K_D aparente en la totalidad de este texto.

p) La semivida de una secuencia de aminoácidos, un compuesto o polipéptido de la invención puede definirse generalmente tal como se describe en el párrafo o) en la página 57 del documento WO 08/020079 y tal como se menciona en ese documento, se refiere al tiempo necesario para que la concentración sérica de la secuencia de aminoácidos, el compuesto o polipéptido se reduzca en un 50%, *in vivo*, por ejemplo, debido a la degradación de la secuencia o el compuesto y/o al aclaramiento o secuestro de la secuencia o el compuesto por mecanismos naturales. La semivida i*n vivo* de una secuencia de aminoácidos, un compuesto o polipéptido de la invención puede determinarse de cualquier manera conocida *per se*, tal como mediante análisis farmacocinético. Las técnicas adecuadas estarán claras para el experto en la técnica y, por ejemplo, generalmente pueden ser tal como se

describe en el párrafo o) en la página 57 del documento WO 08/020079. También tal como se menciona en el párrafo o) en la página 57 del documento WO 08/020079, la semivida puede expresarse usando parámetros como t1/2-alfa, t1/2-beta y el área bajo la curva (AUC). Se hace referencia, por ejemplo, a la Parte experimental a continuación, así como a los manuales convencionales, tal como Kenneth *et al.* 1996 (Chemical Stability of Pharmaceuticals: A Handbook for Pharmacists os) y Peters *et al.* 1996 (Pharmacokinete analysis: A Practical Approach). También se hace referencia a Gibaldi y Perron 1982 (Pharmacokinetics, Dekker M, 2ª edición rev.). Los términos "aumento de la semivida" o "semivida aumentada" se definen en el párrafo o) en la página 57 del documento WO 08/020079 y en particular se refieren a un aumento de la t1/2-beta, con o sin un aumento de la t1/2-alfa y/o el AUC o ambos.

q) Con respecto a una diana o antígeno, el término "sitio de interacción" en la diana o el antígeno significa un sitio, epítopo, determinante antigénico, parte, dominio o tramo de residuos de aminoácido en la diana o el antígeno que es un sitio para la unión a un ligando, receptor u otra pareja de unión, un sitio catalítico, un sitio de escisión, un sitio para la interacción alostérica, un sitio implicado en la multimerización (tal como homomerización o heterodimerización) de la diana o el antígeno; o cualquier otro sitio, epítopo, determinante antigénico, parte, dominio o tramo de residuos de aminoácido en la diana o el antígeno que está involucrado en una acción o mecanismo biológico de la diana o el antígeno. Más generalmente, un "sitio de interacción" puede ser cualquier sitio, epítopo, determinante antigénico, parte, dominio o tramo de residuos de aminoácido en la diana o el antígeno al que una secuencia de aminoácidos o polipéptido de la invención puede unirse de tal manera que se modula la diana o el antígeno (y/o cualquier ruta, interacción, señalización, mecanismo biológico o efecto biológico en el que esté involucrado la diana o el antígeno).

r) Se dice que un polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina es "*específico para"* una primera diana o un primer antígeno en comparación con una segunda diana o un segundo antígeno cuando se une al primer antígeno con afinidad/avidez (tal como se describió anteriormente, y expresado adecuadamente como valor de K_D, valor de K_A, velocidad de K_{off} y/o velocidad de K_{on}) que es al menos 10 veces, tal como al menos 100 veces, y preferiblemente al menos 1000 veces, y hasta 10.000 veces o más que la afinidad con la que dicha secuencia de aminoácidos o dicho polipéptido se une a la segunda diana o el segundo polipéptido. Por ejemplo, el primer antígeno puede unirse a la diana o al antígeno con un valor de K_D que es al menos 10 veces menos, tal como al menos 100 veces menos, y preferiblemente al menos 1000 veces menos, tal como 10.000 veces menos o incluso menos que eso, que la K_D con la que dicha secuencia de aminoácidos o dicho polipéptido se une a la segunda diana o el segundo polipéptido. Preferiblemente, cuando un polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina es "específico para" una primera diana o un primer antígeno en comparación con una segunda diana o un segudo antígeno, se dirige contra (tal como se define en el presente documento) dicha primera diana o dicho primer antígeno, pero no se dirige contra dicha segunda diana o dicho segundo antígeno

s) Los términos "*bloquear de manera cruzada", "bloqueado de manera cruzada"* y "*bloqueo cruzado"* se usan indistintamente en el presente documento para significar la capacidad de un polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina para interferir con la unión del ligando natural a su(s) receptor(es). La medida en que un polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina de la invención puede interferir con la unión de otro compuesto, tal como el ligando natural, a su diana y, por tanto, si puede decirse que se bloquea según la invención, puede determinarse usando ensayos de unión competitiva. Un ensayo de bloqueo cruzado cuantitativo particularmente adecuado usa un enfoque basado en FACS o ELISA o Alphascreen para medir la competencia entre el polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina marcados (por ejemplo, con cola de His o biotinilado) según la invención y el otro agente de unión en términos de su unión a la diana. La parte experimental describe generalmente ensayos basados en desplazamiento de FACS, ELISA o Alphascreen adecuados para determinar si una molécula de unión bloquea de manera cruzada o es capaz de bloquear de manera cruzada un polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina según la invención. Se apreciará que el ensayo puede usarse con cualquiera de los dominios variables únicos de inmunoglobulina u otros agentes de unión descritos en el presente documento. Por tanto, en general, una secuencia de aminoácidos de bloqueo cruzado u otro agente de unión según la invención es, por ejemplo, uno que se unirá a la diana en el ensayo de bloqueo cruzado anterior de modo que, durante el ensayo y en presencia de una segunda secuencia de aminoácidos u otro agente de unión de la invención, el desplazamiento registrado del polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina según la invención está entre el 60% y el 100% (por ejemplo, en un ensayo de competencia basado en ELISA/Alphascreen) o entre el 80% y el 100% (por ejemplo, en un ensayo de competencia basado en FACS) del desplazamiento teórico máximo (por ejemplo, desplazamiento por frío (por ejemplo, no marcado) de polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina que necesita bloquearse de manera cruzada) por el agente potencialmente de bloqueo cruzado que va a someterse a prueba que está presente en una cantidad de 0,01 mM o menos (el agente de bloqueo cruzado puede ser otro anticuerpo monoclonal convencional tal como IgG, fragmentos de anticuerpo monovalentes clásicos (Fab, scFv) y variantes modicadas por ingeniería (por ejemplo, Diabodies, Triabodies, Minibodies, VHH, dAb, VH, VL)).

t) Una secuencia de aminoácidos, tal como por ejemplo, un polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina según la invención se dice que es un "*dominio variable único de inmunoglobulina tipo VHH1"* o "*secuencia de VHH tipo 1",* si dicho dominio variable único de inmunoglobulina de tipo VHH1 o secuencia de VHH tipo 1 tiene una identidad del 85% (usando la secuencia de consenso de VHH1 como secuencia de consulta y usa el algoritmo de Blast con configuración convencional, es decir, matriz de puntuación blosom62) con la secuencia de consenso VHH1

(QVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTLDYYAIGWFRQAPGKEREGVSCISSSD
GSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAA) (SEQ ID NO: 483), y de manera obligatoria tiene una cisteína en la posición 50, es decir, C50 (usando la numeración de Kabat).

u) Una secuencia de aminoácidos, tal como por ejemplo, un polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina según la invención se dice que da *"reacción cruzada"* para dos antígenos o determinantes antigénicos diferentes (tales como la albúmina sérica de dos especies diferentes de mamíferos, tales como la albúmina sérica humana y la albúmina sérica de macaco cangrejero) si es específico para (tal como se define en el presente documento) ambos antígenos o determinantes antigénicos diferentes.

v) Tal como se describe adicionalmente en el párrafo q) en las páginas 58 y 59 del documento WO 08/020079, los residuos de aminoácido de un dominio variable único de inmunoglobulina se numeran según la numeración general para dominios V_H facilitada por Kabat *et al.* ("Sequence of proteins of immunological interest", Servicios de Salud Pública de EE.UU., NIH Bethesda, MD, Publicación n.º 91), tal como se aplica a dominios V_{HH} de camélidos en el artículo de Riechmann y Muyldermans, 2000 (J. Immunol. Methods 240 (1-2):185-195; véase, por ejemplo, la figura 2 de esta publicación). Debe observarse que, tal como se conoce bien en la técnica para dominios V_H y para dominios VHH: el número total de residuos de aminoácido en cada una de las CDR puede variar y puede no corresponder al número total de residuos de aminoácido indicado por la numeración de Kabat (es decir, una o más posiciones según la numeración de Kabat pueden no estar ocupadas en la secuencia real, o la secuencia real puede contener más residuos de aminoácido que el número permitido por la numeración de Kabat). Esto significa que, en general, la numeración según Kabat puede corresponder o no a la numeración real de los residuos de aminoácido en la secuencia real. El número total de residuos de aminoácido en un dominio VH y un dominio VHH generalmente estará en el intervalo de 110 a 120, a menudo entre 112 y 115. Sin embargo, debe observarse que secuencias más pequeñas y más largas también pueden ser adecuadas con los propósitos descritos en el presente documento.

La determinación de las regiones CDR también puede realizarse según diferentes métodos. En la determinación de CDR según Kabat, FR1 de un dominio variable único de inmunoglobulina comprende los residuos de aminoácido en las posiciones 1-30, CDR1 de un dominio variable único de inmunoglobulina comprende los residuos de aminoácido en las posiciones 31-35, FR2 de un dominio variable único de inmunoglobulina comprende los aminoácidos en las posiciones 36-49, CDR2 de un dominio variable único de inmunoglobulina comprende los residuos de aminoácido en las posiciones 50-65, FR3 de un dominio variable único de inmunoglobulina comprende los residuos de aminoácido en las posiciones 66-94, CDR3 de un dominio variable único de inmunoglobulina comprende los residuos de aminoácido en las posiciones 95-102, y FR4 de un dominio variable único de inmunoglobulina comprende los residuos de aminoácido en las posiciones 103-113.

En la presente solicitud, sin embargo, a menos que se indiquen de otro modo, las secuencias de CDR se determinaron según Kontermann y Dübel (Eds. 2010, Antibody Engineering, vol. 2, Springer Verlag Heidelberg Berlin, Martin, capítulo 3, págs. 33-51). Según este método, FR1 comprende los residuos de aminoácido en las posiciones 1-25, CDR1 comprende los residuos de aminoácido en las posiciones 26-35, FR2 comprende los aminoácidos en las posiciones 36-49, CDR2 comprende los residuos de aminoácido en las posiciones 50-58, FR3 comprende los residuos de aminoácido en las posiciones 59-94, CDR3 comprende los residuos de aminoácido en las posiciones 95-102, y FR4 comprende los residuos de aminoácido en las posiciones 103-113.

w) Las figuras, la lista de secuencias y la Parte/Ejemplos experimentales sólo se facilitan para ilustrar adicionalmente la invención y no deben interpretarse ni considerarse como limitativos del alcance de la invención y/o de las reivindicaciones adjuntas de ninguna manera, a menos que se indique explícitamente de otro modo en el presente documento.

x) La concentración inhibitoria mitad de la máxima (CI50) es una medida de la efectividad de un compuesto para inhibir una función biológica o bioquímica, por ejemplo, un efecto farmacológico. Esta medida cuantitativa indica cuánto del ISV o Nanobody (inhibidor) se necesita para inhibir un proceso biológico dado (o componente de un proceso, es decir, una enzima, célula, receptor celular, quimiotaxia, anaplasia, metástasis, invasividad, etc.) a la mitad. Dicho de otro modo, es la concentración inhibitoria (CI) mitad de la máxima (50%) de una sustancia (CI del 50% o CI50). La CI50 de un fármaco puede determinarse construyendo una curva dosis-respuesta y examinando el efecto de diferentes concentraciones de antagonista tal como el ISV o el Nanobody de la invención sobre la reversión de la actividad agonista. Los valores de CI50 pueden calcularse para un antagonista dado tal como el ISV o el Nanobody de la invención determinando la concentración necesaria para inhibir la mitad de la respuesta biológica máxima del agonista.

El término concentración efectiva mitad de la máxima (CE50) se refiere a la concentración de un compuesto que induce una respuesta a medio camino entre la línea base y el máximo después de un tiempo de exposición específico. En el presente contexto, se usa como una medida de la potencia de un polipéptido, ISV o Nanobody. La CE50 de una curva dosis-respuesta graduada representa la concentración de un compuesto a la que se observa el 50% de su efecto máximo. La concentración se expresa preferiblemente en unidades molares.

En los sistemas biológicos, pequeños cambios en la concentración de ligando producen generalmente cambios

rápidos en la respuesta, siguiendo una función sigmoidea. El punto de inflexión en el que el aumento de la respuesta con la concentración de ligando creciente comienza a disminuir es la CE50. Esto puede determinarse matemáticamente mediante la derivación de la recta de ajuste óptimo. Es conveniente basarse en un gráfico para la estimación en la mayoría de los casos. En caso de que la CE50 se proporcione en la sección de ejemplos, los experimentos se diseñaron para reflejar la KD de la manera más precisa posible. Dicho de otro modo, los valores de CE50 pueden considerarse como valores de KD. El término "KD promedio" se refiere al valor de KD promedio obtenido en al menos 1, pero preferiblemente más de 1, tal como al menos 2 experimentos. El término "promedio" se refiere al término matemático "promedio" (sumas de datos divididas entre el número de elementos en los datos).

También está relacionado con la CI50, que es una medida de la inhibición de un compuesto (inhibición del 50%). Para ensayos de unión competitiva y ensayos de antagonistas funcionales, la CI50 es la medida resumen más común de la curva dosis-respuesta. Para los ensayos de agonista/estimulador, la medida resumen más común es la CE50.

y) Debe observarse que, tal como se usa en el presente documento, las formas en singular "un(o)", "una" y "el/la" incluyen referencias en plural a menos que el contexto indique claramente otra cosa. Así, por ejemplo, la referencia a "un reactivo" incluye uno o más de tales reactivos diferentes y la referencia a "el método" incluye la referencia a etapas y métodos equivalentes conocidos por los expertos en la técnica que podrían modificarse o sustituirse por los métodos descritos en el presente documento.

A menos que se indique de otro modo, el término "al menos" que precede a una serie de elementos debe entenderse que se refiere a cada elemento de la serie. Los expertos en la técnica reconocerán, o podrán determinar usando no más que la experimentación de rutina, muchos equivalentes a las realizaciones específicas de la invención descritas en el presente documento. Tales equivalentes están destinados a estar abarcados por la presente invención.

El término "y/o" cuando se usa en el presente documento incluye el significado de "y", "o" y "todos o cualquier otra combinación de los elementos conectados por dicho término".

El término "aproximadamente" o "de manera aproximada" tal como se usa en el presente documento significa dentro del 20%, preferiblemente dentro del 15%, más preferiblemente dentro del 10%, y lo más preferiblemente dentro del 5% de un valor o intervalo dado.

En la totalidad de esta memoria descriptiva y las reivindicaciones que siguen, a menos que el contexto requiera otra cosa, se entenderá que la palabra "comprende", y variaciones tales como "comprende" y "que comprende", implican la inclusión de un número entero o etapa o grupo de números enteros o etapas establecido pero no la exclusión de ningún otro número entero o etapa o grupo de número enteros o etapas. Cuando se usa en el presente documento, el término "que comprende" puede sustituirse por el término "que contiene" o "que incluye" o, a veces, cuando se usa en el presente documento por el término "que tiene".

La presente invención se refiere a un polipéptido que comprende al menos un primer y al menos un dominio variable único de inmunoglobulina (ISV) adicional, en el que dicho al menos primer ISV tiene una alta afinidad por/se une al dominio constante del receptor de células T (TCR) y dicho al menos un ISV adicional tiene una alta afinidad por/se une a un antígeno en una célula diana.

Normalmente, los polipéptidos multiespecíficos de la invención combinan el reconocimiento de antígeno de alta afinidad en la célula diana con la activación de células T, dando como resultado una activación que es independiente de la especificidad natural de las células T. El modo de acción de las moléculas de unión que se unen tanto a una molécula de la superficie celular en una célula diana tal como un antígeno tumoral como al TCR de células T se conoce comúnmente. Al acercar una célula T a una célula diana, es decir, comprometer dicha célula T y agrupar el complejo TCR da como resultado la destrucción de la célula diana por la célula T. En la presente invención, este procedimiento se aprovecha en la lucha contra enfermedades proliferativas, enfermedades inflamatorias, enfermedades infecciosas y enfermedades autoinmunitarias. En general, las células T están equipadas con gránulos que contienen una combinación mortal de proteínas formadoras de poros, denominadas perforinas, y proteasas que inducen la muerte celular, llamadas granzimas. Preferiblemente, estas proteínas se suministran a las células diana a través de una sinapsis citolítica que se forma si las células T están cerca de una célula diana que se pretende destruir. Normalmente, la proximidad entre una célula T y una célula diana se logra mediante la unión de la célula T a un complejo CMH/péptido usando su receptor de células T correspondiente. Los polipéptidos de la invención llevan una célula T a una proximidad tan cercana a una célula diana en ausencia de interacción del receptor de células T/CMH.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho polipéptido dirige la célula T a la célula diana.

Con un brazo (primer ISV), el polipéptido multiespecífico tiene una alta afinidad por/se une al dominio constante de la subunidad TCR, un componente proteico del complejo de transducción de señales del receptor de células T en las

células T. Con otro brazo (segundo ISV y/o tercer ISV, etc.), el polipéptido multiespecífico reconoce, tiene una alta afinidad por/se une a uno o varios antígenos en las células diana. Preferiblemente, la activación de células T sólo se ve cuando los polipéptidos multiespecíficos se presentan a las células T en la superficie de las células diana. La dependencia de antígeno de las células diana para la activación da como resultado un perfil de seguridad favorable. En una realización, los polipéptidos multiespecíficos unen de forma transitoria las células T y las células diana. Preferiblemente, el polipéptido multiespecífico puede inducir células T policlonales en reposo, tales como células T $CD4^+$ y/o $CD8^+$ a la activación, para la lisis redirigida altamente potente de las células diana. Preferiblemente, la célula T se dirige a una célula diana siguiente después de la lisis de la primera célula diana.

Las proteínas y los polipéptidos que comprenden o consisten esencialmente en dos o más dominios variables únicos de inmunoglobulina (tales como al menos dos dominios variables únicos de inmunoglobulina de la invención) se denominarán en el presente documento proteínas o polipéptidos “multivalentes” o “constructos multivalentes”. Algunos ejemplos no limitativos de tales constructos multivalentes quedarán claros a partir de la descripción adicional en el presente documento. Los polipéptidos de la invención son “multivalentes”, es decir, que comprenden dos o más elementos estructurales o ISV de los que al menos el primer elemento estructural, ISV o Nanobody y el segundo elemento estructural, ISV o Nanobody son diferentes y se dirigen contra dianas diferentes, tales como antígenos o determinantes antigénicos. Los polipéptidos de la invención que contienen al menos dos elementos estructurales, ISV o Nanobodies, en los que al menos un elemento estructural, ISV o Nanobody se dirige contra un primer antígeno (es decir, contra la primera diana, tal como, por ejemplo el dominio constante de un TCR) y al menos un elemento estructural, ISV o Nanobody se dirige contra un segundo antígeno (es decir, contra la segunda diana que es diferente de la primera diana, tal como, por ejemplo un TAA, tal como CD20 o HER2), también se denominarán polipéptidos “multiespecíficos” de la invención, y los elementos estructurales, ISV o Nanobodies presentes en dichos polipéptidos también se denominarán en el presente documento que están en un “formato multivalente” o “formato multiespecífico”. Así, por ejemplo, un polipéptido “biespecífico” de la invención es un polipéptido que comprende al menos un elemento estructural, ISV o Nanobody dirigido contra una primera diana (por ejemplo, TCR) y al menos otro elemento estructural, ISV o Nanobody dirigido contra una segunda diana (es decir, dirigido contra una segunda diana diferente de dicha primera diana, tal como, por ejemplo un TAA, por ejemplo CD20 o HER2), mientras que un polipéptido “triespecífico” de la invención es un polipéptido que comprende al menos un elemento estructural, ISV o Nanobody dirigido contra una primera diana (por ejemplo, TCR), un segundo elemento estructural, ISV o Nanobody dirigido contra una segunda diana diferente de dicha primera diana (por ejemplo, un TAA, por ejemplo, CD20 o HER2) y al menos otro elemento estructural, ISV o Nanobody dirigido contra un tercer antígeno (es decir, diferente tanto de la primera diana como de la segunda, tal como otro TAA); etc. Tal como estará claro a partir de la descripción, la invención no se limita a polipéptidos biespecíficos, en el sentido de que un polipéptido multiespecífico de la invención puede comprender al menos un primer elemento estructural, ISV o Nanobody contra una primera diana, un segundo elemento estructural, ISV o Nanobody contra una segunda diana y cualquier número de elementos estructurales, ISV o Nanobodies dirigidos contra una o más dianas, que pueden ser iguales o diferentes de la primera y/o segunda dianas, respectivamente. Los elementos estructurales, los ISV o los Nanobodies pueden ligarse opcionalmente mediante secuencias ligadoras.

Los términos polipéptido biespecífico, formato biespecífico, constructo biespecífico, constructo de Nanobody biespecífico, anticuerpo biespecífico y biespecífico se usan indistintamente en el presente documento.

Tal como estará claro a partir de la descripción adicional anterior y en el presente documento, los dominios variables únicos de inmunoglobulina de la invención pueden usarse como “elementos estructurales” para formar polipéptidos de la invención, por ejemplo, combinándolos adecuadamente con otros grupos, residuos, restos o unidades de unión, para formar compuestos o constructos tal como se describe en el presente documento (tales como, sin limitaciones, los polipéptidos bi/tri/tetra/multivalentes y bi/tri/tetra/multiespecíficos de la invención descritos en el presente documento) que combinan dentro de una molécula una o más propiedades o funciones biológicas deseadas.

Se apreciará (también tal como se demuestra en la sección de Ejemplos) que el ISV que se une al TCR y el ISV que se une al antígeno en una célula diana pueden situarse en cualquier orden en el polipéptido de la invención. Más particularmente, en una realización, el ISV que se une al TCR se sitúa en el extremo N-terminal y el ISV que se une al antígeno en una célula diana se sitúa en el extremo C-terminal. En otra realización, el ISV que se une al antígeno en una célula diana se sitúa en el extremo N-terminal y el ISV que se une al TCR se sitúa en el extremo C-terminal.

En un aspecto preferido, el polipéptido de la invención comprende al menos un primer, al menos un segundo y al menos un tercer dominios variables únicos de inmunoglobulina (ISV), en el que dicho al menos un primer ISV tiene una alta afinidad por/se une al dominio constante del receptor de células T (TCR); dicho al menos un segundo ISV tiene una alta afinidad por/se une a un primer antígeno en una célula diana, y dicho al menos un tercer ISV tiene una alta afinidad por/se une a un segundo antígeno en una célula diana, en el que dicho segundo antígeno es diferente de dicho primer antígeno. Dicho primer antígeno y dicho segundo antígeno pueden estar en la misma o en diferentes células diana.

Se apreciará (también tal como se demuestra en la sección de Ejemplos) que el ISV que se une al TCR y los ISV que se unen al primer y segundo antígenos en una célula diana pueden situarse en cualquier orden en el polipéptido

de la invención. Más particularmente, en una realización, el ISV que se une al TCR se sitúa en el extremo N-terminal, el ISV que se une al primer antígeno en una célula diana se sitúa de manera central y el ISV que se une al segundo antígeno en una célula diana se sitúa en el extremo C-terminal. En otra realización, el ISV que se une al TCR se sitúa en el extremo N-terminal, el ISV que se une al segundo antígeno en una célula diana se sitúa de manera central y el ISV que se une al primer antígeno en una célula diana se sitúa en el extremo C-terminal. En otra realización, el ISV que se une al primer antígeno en una célula diana se sitúa en el extremo N-terminal, el ISV que se une al segundo antígeno en una célula diana se sitúa de manera central y el ISV que se une al TCR se sitúa en el extremo C-terminal. En otra realización, el ISV que se une al primer antígeno en una célula diana se sitúa en el extremo N-terminal, el ISV que se une al TCR se sitúa de manera central y el ISV que se une al segundo antígeno en una célula diana se sitúa en el extremo C-terminal. En otra realización, el ISV que se une al segundo antígeno en una célula diana se sitúa en el extremo N-terminal, el ISV que se une al TCR se sitúa de manera central y el ISV que se une al primer antígeno en una célula diana se sitúa en el extremo C-terminal. En otra realización, el ISV que se une al segundo antígeno en una célula diana se sitúa en el extremo N-terminal, el ISV que se une al primer antígeno en una célula diana se sitúa de manera central y el ISV que se une al TCR se sitúa en el extremo C-terminal.

La invención se refiere además a compuestos o constructos, y en particular proteínas o polipéptidos que comprenden o consisten esencialmente en uno o más ISV o polipéptidos de la invención, y opcionalmente comprenden además uno o más de otros grupos, residuos, restos o unidades de unión. Tal como estará claro para el experto a partir de la divulgación adicional en el presente documento, tales grupos, residuos, restos, unidades de unión o secuencias de aminoácidos adicionales pueden proporcionar o no funcionalidad adicional al polipéptido de la invención (y/o al compuesto o constructo en el que está presente) y puede modificar o no las propiedades del polipéptido de la invención.

Los compuestos, constructos o polipéptidos de la invención pueden prepararse generalmente mediante un método que comprende al menos una etapa de ligar adecuadamente el uno o más dominios variables únicos de inmunoglobulina de la invención al uno o más grupos, residuos, restos o unidades de unión adicionales, opcionalmente a través de uno o más ligadores adecuados, para proporcionar el compuesto, constructo o polipéptido de la invención. Los polipéptidos de la invención también pueden prepararse mediante un método que comprende generalmente al menos las etapas de proporcionar un ácido nucleico que codifica para un polipéptido de la invención, expresar dicho ácido nucleico de una manera adecuada y recuperar el polipéptido expresado de la invención. Tales métodos pueden realizarse de una manera conocida *per se,* lo que estará claro para el experto, por ejemplo, basándose en los métodos y las técnicas que se describen adicionalmente en el presente documento.

El procedimiento de diseño/selección y/o preparación de un compuesto, constructo o polipéptido de la invención, partiendo de una secuencia de aminoácidos de la invención, también se denomina en el presente documento "*formateo"* de dicha secuencia de aminoácidos de la invención; y se dice que un aminoácido de la invención que se hace que forme parte de un compuesto, constructo o polipéptido de la invención se "*formatea"* o está "*en el formato de"* dicho compuesto, constructo o polipéptido de la invención. Los ejemplos de modos en que puede formatearse una secuencia de aminoácidos de la invención y los ejemplos de tales formatos estarán claros para el experto en la técnica basándose en la divulgación en el presente documento; y tales polipéptidos o dominios variables únicos de inmunoglobulina formateados forman un aspecto adicional de la invención.

Por ejemplo, tales grupos, residuos, restos o unidades de unión adicionales pueden ser uno o más dominios variables únicos de inmunoglobulina adicionales, de modo que el compuesto o constructo es una proteína (de fusión) o polipéptido (de fusión). En un aspecto preferido pero no limitativo, dichos uno o más de otros grupos, residuos, restos o unidades de unión son secuencias de inmunoglobulina. Incluso más preferiblemente, dichos uno o más de otros grupos, residuos, restos o unidades de unión se eligen del grupo que consiste en anticuerpos de dominios, dominios variables únicos de inmunoglobulina que son adecuados para su uso como anticuerpo de dominios, anticuerpos de dominio único, dominios variables únicos de inmunoglobulina (ISV) que son adecuados para su uso como anticuerpo de dominio único, "dAb", dominios variables únicos de inmunoglobulina que son adecuados para su uso como dAb o Nanobodies. Alternativamente, tales grupos, residuos, restos o unidades de unión pueden ser, por ejemplo, grupos químicos, residuos, restos, que pueden ser o no biológica y/o farmacológicamente activos por sí mismos. Por ejemplo, y sin limitación, tales grupos pueden ligarse al uno o más polipéptidos o dominios variables únicos de inmunoglobulina de la invención para proporcionar un "derivado" de un ISV o polipéptido de la invención, tal como se describe adicionalmente en el presente documento.

También dentro del alcance de la presente invención se encuentran compuestos o constructos, que comprenden o consisten esencialmente en uno o más derivados tal como se describe en el presente documento, y opcionalmente comprenden además uno o más de otros grupos, residuos, restos o unidades de unión, opcionalmente ligados mediante uno o más ligadores. Preferiblemente, dichos uno o más de otros grupos, residuos, restos o unidades de unión son dominios variables únicos de inmunoglobulina. En los compuestos o constructos descritos anteriormente, el uno o más dominios variables únicos de inmunoglobulina de la invención y el uno o más grupos, residuos, restos o unidades de unión pueden ligarse directamente entre sí y/o mediante uno o más ligadores o espaciadores adecuados. Por ejemplo, cuando el uno o más grupos, residuos, restos o unidades de unión son dominios variables únicos de inmunoglobulina, los ligadores también pueden ser dominios variables únicos de inmunoglobulina, de modo que el compuesto o constructo resultante es una proteína de fusión o polipéptido de fusión.

En algunas realizaciones, los polipéptidos comprenden al menos dos o más dominios variables únicos de inmunoglobulina divulgados en el presente documento. En algunas realizaciones, los polipéptidos consisten esencialmente en dos o más dominios variables únicos de inmunoglobulina divulgados en el presente documento. Un polipéptido que "consiste esencialmente en" dos o más dominios variables únicos de inmunoglobulina, es un polipéptido que además de los dos o más dominios variables únicos de inmunoglobulina divulgados en el presente documento no tiene dominios variables únicos de inmunoglobulina adicionales. Por ejemplo, un polipéptido que consiste esencialmente en dos dominios variables únicos de inmunoglobulina no incluye ningún dominio variable único de inmunoglobulina adicional. Sin embargo, debe apreciarse que un polipéptido que consiste esencialmente en dos o más dominios variables únicos de inmunoglobulina puede incluir funcionalidades adicionales, tales como un marcador, una toxina, uno o más ligadores, una secuencia de unión, etc. Estas funcionalidades adicionales incluyen tanto grupos basados en aminoácidos como no basados en aminoácidos. En algunas realizaciones, los polipéptidos consisten en uno o más dominios variables únicos de inmunoglobulina divulgados en el presente documento. Debe apreciarse que los términos "constructo de polipéptido" y "polipéptido" pueden usarse indistintamente en el presente documento (a menos que el contexto indique claramente otra cosa).

En algunas realizaciones, los polipéptidos incluyen constructos multivalentes o multiespecíficos que comprenden dominios variables únicos de inmunoglobulina divulgados en el presente documento. En algunas realizaciones, los polipéptidos comprenden uno o más armazones basados en anticuerpos y/o armazones no basados en anticuerpos divulgados en el presente documento. En algunas realizaciones, los polipéptidos comprenden un resto de proteína de unión sérica. En algunas realizaciones, el resto de proteína de unión sérica es un dominio variable único de inmunoglobulina. En algunas realizaciones, el dominio variable único de inmunoglobulina es un Nanobody.

Se apreciará que puede elegirse el orden de los elementos estructurales, tal como, por ejemplo un primer elemento estructural, un segundo elemento estructural, un tercer elemento estructural, etc., en el polipéptido (orientación) según las necesidades del experto en la técnica, así como las afinidades relativas que pueden depender de la ubicación de estos elementos estructurales en el polipéptido. Si el polipéptido comprende un ligador, es una cuestión de elección de diseño. Sin embargo, algunas orientaciones, con o sin ligadores, pueden proporcionar características de unión preferidas en comparación con otras orientaciones. Por ejemplo, el orden de un primer y un segundo elementos estructurales en el polipéptido de la invención puede ser (del extremo N-terminal al terminal C): (i) primer elemento estructural (por ejemplo, un primer ISV tal como un primer Nanobody) - [ligador] - segundo elemento estructural (por ejemplo, un segundo ISV como un segundo Nanobody); o (ii) segundo elemento estructural (por ejemplo, un segundo ISV como un segundo Nanobody) - [ligador] - primer elemento estructural (por ejemplo, un primer ISV como un primer Nanobody); (en el que el ligador es opcional). Todas las orientaciones están abarcadas por la invención. Los polipéptidos que contienen una orientación de elementos estructurales que proporciona las características deseadas (de unión) pueden identificarse fácilmente mediante un examen de rutina, por ejemplo, tal como se ejemplifica en la sección experimental.

El primer dominio variable único de inmunoglobulina (ISV) del polipéptido de la invención tiene una alta afinidad por/se une a una célula efectora, preferiblemente el TCR de dicha célula efectora, e incluso más preferiblemente el dominio constante del receptor de células T (TCR).

Una célula efectora es una célula que comprende un complejo de TCR, preferiblemente una célula inmunitaria, tal como una célula T, preferiblemente una célula T cooperadora $CD4^+$ (también conocida como célula CD4, célula T cooperadora o célula T4), más preferiblemente una célula T citotóxica (también conocida como célula T_C, CTL o células T $CD8^+$) o linfocitos T citolíticos naturales (células NKT). En algunas realizaciones, la célula está presente *in vivo*. En algunas realizaciones, la célula está presente *in vitro*. La célula efectora de la invención se refiere en particular a células de mamífero, preferiblemente a células de primates, e incluso más preferiblemente a células humanas.

Tal como se usa en el presente documento, los términos "complejo de TCR" o "complejo de TCR αβ-CD3" se refieren al complejo de receptor de células T presentado en la superficie de las células T (véase Kuhns *et al.* 2006, Immunity 24:133-139). El complejo de TCR está compuesto por seis proteínas transmembrana unipaso de tipo I diferentes: las cadenas TCRα y TCRβ que forman el heterodímero de TCR responsable del reconocimiento de ligando, y las cadenas CD3γ, CD3δ, CD3ε y ζ asociadas de manera no covalente, que portan motivos de secuencia citoplasmáticos que se fosforilan tras la activación del receptor y reclutan una gran cantidad de componentes de señalización. Las cadenas α y β del receptor de células T consisten en un dominio constante y un dominio variable. Las secuencias para los dominios constantes de CD3 humano y TCRα/β humano se proporcionan en la tabla A-6 (SEQ ID NO: 344-349; remítase a los identificadores UniProt: CD3 delta: P04234, CD3 gamma: P09693, CD3 épsilon: P07766, CD3 zeta: P20963, TCR alfa: P01848 y TCR beta: relacionado con P01850).

En una realización, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV se une al dominio constante de un receptor de células T α (TCR-α) (SEQ ID NO: 348) y/o al dominio constante del receptor de células T β (TCR-β) (SEQ ID NO: 349), o variantes polimórficas o isoformas de los mismos.

Alternativamente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV se une al dominio constante de un receptor de células T α (TCR-α) (SEQ ID NO: 484) y/o al dominio constante del receptor de células T β (TCR-β) (SEQ ID NO: 485), o variantes polimórficas o isoformas de los mismos.

Las isoformas son secuencias proteicas alternativas que pueden generarse a partir del mismo gen por uno sólo o por la combinación de eventos biológicos tales como el uso de promotores alternativos, corte y empalme alternativo, inicio alternativo y desplazamiento de marcos de lectura ribosómicos, todo tal como se conoce en la técnica.

La "activación de células T" tal como se usa en el presente documento se refiere a una o más respuestas celulares de una célula T, por ejemplo una célula T citotóxica, tal como seleccionada de: proliferación, diferenciación, secreción de citocinas, liberación de moléculas efectoras citotóxicas, actividad citotóxica, expresión de marcadores de activación y lisis de células diana redirigidas.

Los polipéptidos de la invención son capaces de inducir la activación de células T. se conocen ensayos adecuados para medir la activación de células T en la técnica descrita en el presente documento, por ejemplo, tal como se describe en el documento WO 99/54440 o por Schlereth *et al.* 2005 (Cancer Immunol. Immunother. 20:1-12), o tal como se ejemplifica en los ejemplos o a continuación.

En una realización, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho polipéptido induce la activación de células T. Preferiblemente, el polipéptido de la invención induce la activación de células T sólo cuando dicho ISV segundo y/o adicional se une a un antígeno en una célula diana.

En una realización, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicha activación de células T depende de la presentación de dicho polipéptido unido a dicho primer antígeno en una célula diana a una célula T.

La activación de células T por los polipéptidos de la invención puede monitorizarse mediante la regulación por incremento de CD69, CD25 y diversas moléculas de adhesión celular, expresión *de novo* y/o liberación de citocinas (por ejemplo, IFN-γ, TNF-α, IL-6, IL-2, IL-4 e IL-10), regulación por incremento de la expresión de granzimas y perforinas, y/o proliferación celular, formación de ampollas en la membrana, activación de procaspasas 3 y/o 7, fragmentación del ADN nuclear y/o escisión del sustrato de caspasa poli(ADP-ribosa)-polimerasa. Preferiblemente, la lisis redirigida de células diana por polipéptidos multiespecíficos es independiente de la especificidad del receptor de células T, la presencia de CMH clase I y/o microglobulina β2, y/o de cualquier estímulo coestimulador.

En una realización, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicha activación de células T es independiente del reconocimiento de CMH.

Los polipéptidos de la invención muestran lisis redirigida *in vitro* con células T positivas para $CD8^+$ y $CD4^+$ policlonales periféricas no estimuladas previamente. La lisis redirigida de células diana a través del reclutamiento de células T por los polipéptidos de la invención implica la formación de sinapsis citolítica y el suministro de perforina y granzimas. Se ha descrito la lisis celular por células T, por ejemplo por Atkinson y Bleackley 1995 (Crit. Rev. Immunol 15 (3-4): 359-384). Preferiblemente, las células T involucradas son capaces de lisis de células diana en serie, y no se ven afectadas por mecanismos de escape inmunitario que interfieren con el procesamiento y la presentación del antígeno peptídico, o la diferenciación clonal de células T (véase, por ejemplo, el documento WO 2007/042261). *In vitro,* se observa lisis redirigida a bajas concentraciones picomolares, lo que sugiere que es necesario que esté unido un número muy bajo de los polipéptidos de la invención a las células diana para desencadenar las células T. Tal como se demostró en los ejemplos, la baja razón de efector con respecto a diana podría ser indicativa de lisis de células diana en serie. Por consiguiente, la presente invención se refiere a polipéptidos potentes. Preferiblemente, el polipéptido de la invención media en la destrucción de células diana, por ejemplo células cancerosas, tal como la estimulación de las células T en la formación de poros y el suministro de componentes proapoptóticos de los gránulos de células T citotóxicas.

En una realización, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicha activación de células T provoca una o más respuestas celulares de dichas células T, en el que dicha respuesta celular se selecciona del grupo que consiste en proliferación, diferenciación, secreción de citocinas, liberación de moléculas efectoras citotóxicas, actividad citotóxica, expresión de marcadores de activación y lisis de células diana redirigidas.

Tal como se usa en el presente documento, el término "potencia" es una medida de la actividad biológica de un agente, tal como un polipéptido, ISV o Nanobody. La potencia de un agente puede determinarse mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica, tal como por ejemplo, tal como se describe en la sección experimental. Los ensayos de potencia basados en cultivos celulares suelen ser el formato preferido para determinar la actividad biológica, ya que miden la respuesta fisiológica provocada por el agente y pueden generar resultados en un periodo de tiempo relativamente corto. Pueden usarse diversos tipos de ensayos basados en células, basados en el

mecanismo de acción del producto incluyendo, pero sin limitarse a, ensayos de proliferación, ensayos de citotoxicidad, ensayos de destrucción celular, ensayos de genes indicadores, ensayos de unión de receptor de superficie celular y ensayos para medir la inducción/inhibición de proteínas funcionalmente esenciales u otras moléculas señal (tales como proteínas fosforiladas, enzimas, citocinas, AMPc y similares), modelo de reducción de células B de Ramos, ensayo de destrucción de células tumorales mediada por células T (por ejemplo, tal como se expone en la sección de Ejemplos)), que se conocen bien todos en la técnica. Los resultados de los ensayos de potencia basados en células pueden expresarse como "potencia relativa" tal como se determina mediante comparación del polipéptido multiespecífico de la invención con la respuesta obtenida para el ISV monovalente de referencia correspondiente, por ejemplo un polipéptido que comprende sólo un ISV o un Nanobody, que opcionalmente comprende además un Nanobody irrelevante (véase la sección experimental).

En una realización, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicha activación de células T provoca la inhibición de una actividad de dicha célula diana, tal como retardar o minimizar la propagación de la célula diana, inhibir o retardar el crecimiento y/o proliferación de la célula diana, y/o destruir la célula diana (por ejemplo, provocar la regresión del trastorno y/o sus síntomas) en más de aproximadamente el 10%, tal como el 20%, el 30% o el 40% o incluso más del 50%, tal como más del 60%, tal como el 70%, el 80% o incluso más del 90%, tal como el 100%.

El primer elemento estructural, ISV, Nanobody o VHH de la invención tiene una alta afinidad por su diana, el dominio constante de TCR. El primer elemento estructural, ISV o Nanobody de la invención puede dirigirse, por ejemplo, contra un determinante antigénico, epítopo, parte, dominio, subunidad o confirmación (cuando corresponda) de dicha primera diana. El primer elemento estructural, por ejemplo, el primer ISV, Nanobody o VHH, se elige preferiblemente por su alta afinidad por su diana *per se*, sin tener en cuenta la influencia de cualquier efecto de avidez.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV se une al dominio constante del receptor de células T (TCR) con un valor de KD promedio de entre 100 nM y 10 pM, tal como a un valor de KD promedio de 90 nM o menos, incluso más preferiblemente a un valor de KD promedio de 80 nM o menos, tal como menos de 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 nM o incluso menos, tal como menos de 4, 3, 2 ó 1 nM, tal como menos de 500, 400, 300, 200, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 pM, o incluso menos, tal como menos de 10 pM. Preferiblemente, la KD se determina mediante Kinexa, BLI o SPR, por ejemplo, tal como se determina mediante Proteon. Por ejemplo, dicha KD se determina tal como se establece en la sección de Ejemplos.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV tiene una alta afinidad cuando se mide como monovalente. Preferiblemente, dicha KD promedio se mide mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) en proteína recombinante.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho polipéptido tiene una constante de disociación (K_D) a (o para la unión a) dicho TCR seleccionada del grupo que consiste en: como máximo aproximadamente 10^{-5} M, como máximo aproximadamente 10^{-6} M, como máximo aproximadamente 10^{-7} M, como máximo aproximadamente 10^{-8} M, como máximo aproximadamente 10^{-9} M, como máximo aproximadamente 10^{-10} M, como máximo aproximadamente 10^{-11} M, y como máximo aproximadamente 10^{-12} M, preferiblemente tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

La presente invención también se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV se une a dicho TCR con un valor de CE50 de entre 100 nM y 1 pM, tal como a un valor de CE50 promedio de 100 nM o menos, incluso más preferiblemente a un valor de CE50 promedio de 90 nM o menos, tal como menos de 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 nM o incluso menos, tal como menos de 4, 3, 2 ó 1 nM o incluso menos, tal como menos de 500, 400, 300, 200, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 pM, o incluso menos, tal como menos de 4 pM.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicha KD promedio se determina mediante FACS, Biacore, ELISA, en un primer ISV monovalente, tal como un Nanobody, o un polipéptido que comprende un primer ISV monovalente, tal como un Nanobody, por ejemplo, dicha CE50 se determina tal como se establece en la sección de Ejemplos.

Se ha demostrado en los ejemplos que la KD se correlaciona bien con la CE50.

En una realización, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho polipéptido tiene una constante de velocidad (K_{on}) a (o para la unión a) dicho TCR seleccionado del grupo que consiste en al menos aproximadamente 10^2 $M^{-1}s^{-1}$, al menos aproximadamente 10^3 $M^{-1}s^{-1}$, al menos aproximadamente 10^4 $M^{-1}s^{-1}$, al menos aproximadamente 10^5 $M^{-1}s^{-1}$, al menos aproximadamente 10^6 $M^{-1}s^{-1}$, 10^7 $M^{-1}s^{-1}$, al menos aproximadamente 10^8 $M^{-1}s^{-1}$, al menos aproximadamente 10^9 $M^{-1}s^{-1}$ y al menos aproximadamente 10^{10} $M^{-1}s^{-1}$, preferiblemente tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial o tal como se realiza en la sección de ejemplos.

En una realización, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho polipéptido tiene una constante de velocidad de disociación (K_{off}) a (o para la unión a) dicho TCR seleccionada del grupo que consiste en como máximo aproximadamente 10^{-3} s^{-1}, como máximo aproximadamente 10^{-4} s^{-1}, como máximo aproximadamente 10^{-5} s^{-1}, como máximo aproximadamente 10^{-6} s^{-1}, como máximo aproximadamente 10^{-7} s^{-1}, como máximo aproximadamente 10^{-8} s^{-1}, como máximo aproximadamente 10^{-9} s^{-1}, y como máximo aproximadamente 10^{-10} s^{-1}, preferiblemente tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial o tal como se realiza en la sección de ejemplos.

Se contemplan modificaciones de la secuencia de aminoácidos de las moléculas de unión, los ISV o polipéptidos descritos en el presente documento. Por ejemplo, puede ser deseable mejorar la afinidad de unión y/u otras propiedades biológicas del anticuerpo o ISV. Se preparan variantes de secuencia de aminoácidos de las moléculas de unión, los ISV o los polipéptidos mediante la introducción de cambios de nucleótidos apropiados en las moléculas de unión, los ISV o los ácidos nucleicos de los polipéptidos, o mediante síntesis peptídica.

Tales modificaciones incluyen, por ejemplo, deleciones y/o inserciones en, y/o sustituciones de residuos dentro de las secuencias de aminoácidos de las moléculas de unión, los ISV o polipéptidos. Cualquier combinación de deleción, inserción y sustitución se realiza para llegar al constructo final, siempre que el constructo final presente las características deseadas. Los cambios de aminoácidos también pueden alterar procesos postraduccionales de las moléculas de unión, tal como cambiar el número o la posición de los sitios de glucosilación. Preferiblemente, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 aminoácidos pueden sustituirse en una CDR, mientras que 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 ó 25 aminoácidos pueden sustituirse en las regiones de entramado (FR). Las sustituciones son preferiblemente sustituciones conservativas tal como se describe en el presente documento. Además o alternativamente, pueden insertarse o delecionarse 1, 2, 3, 4, 5 ó 6 aminoácidos en cada una de las CDR (por supuesto, dependiendo de su longitud), mientras que 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 ó 25 aminoácidos pueden insertarse o delecionarse en cada una de las FR.

Un método útil para la identificación de determinados residuos o regiones de las moléculas de unión, los ISV o polipéptidos, que son ubicaciones preferidas para la mutagénesis, se denomina “mutagénesis por barrido de alanina” tal como se describe por Cunningham y Wells 1989 (Science 244:1081-1085). En el presente documento, se identifica(n) un residuo o grupo de residuos diana dentro de la molécula de unión (por ejemplo, residuos cargados tales como Arg, Asp, His, Lys y Glu) y se reemplaza(n) por un aminoácido neutro o cargado negativamente (lo más preferiblemente, alanina o polialanina) para afectar a la interacción de los aminoácidos con el epítopo. Esas ubicaciones de aminoácidos que demuestran sensibilidad funcional a las sustituciones luego se refinan mediante la introducción de otras variantes o variantes adicionales en, o para, los sitios de sustitución. Por tanto, mientras que el sitio para introducir una variación de secuencia de aminoácidos está predeterminado, la naturaleza de la mutación *per se* no necesita estar predeterminada. Por ejemplo, para analizar el rendimiento de una mutación en un sitio dado, se realiza un barrido de ala o mutagénesis al azar en un codón o región diana y las variantes de la molécula de unión expresadas se seleccionan para la actividad deseada.

Preferiblemente, las inserciones de secuencia de aminoácidos incluyen fusiones de extremo amino y/o carboxilo-terminal que varían en longitud desde 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 residuos a polipéptidos que contienen cien o más residuos.

Otro tipo de variante es una variante de sustitución de aminoácidos. Estas variantes tienen preferiblemente al menos 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 ó 10 residuos de aminoácido en la molécula de unión, el ISV o polipéptido reemplazados por un residuo diferente. Los sitios de mayor interés para la mutagénesis de sustitución incluyen las CDR, en particular las regiones hipervariables, pero también se contemplan alteraciones de FR. Por ejemplo, si una secuencia de CDR abarca 6 aminoácidos, se prevé que uno, dos o tres de estos aminoácidos se sustituyan. De manera similar, si una secuencia de CDR abarca 15 aminoácidos, se prevé que uno, dos, tres, cuatro, cinco o seis de estos aminoácidos se sustituyan.

Generalmente, si se sustituyen aminoácidos en una o más o todas las CDR, se prefiere que la secuencia “sustituida” obtenida en ese momento sea idéntica en al menos el 60%, más preferiblemente el 65%, incluso más preferiblemente el 70%, de manera particularmente preferible el 75%, de manera más particularmente preferible el 80% o incluso más del 90% a la secuencia de CDR “original”. Esto significa que depende de la longitud de la CDR en qué grado es idéntica a la secuencia “sustituida”. Por ejemplo, una CDR que tiene 5 aminoácidos es idéntica preferiblemente en el 80% a su secuencia sustituida para tener al menos un aminoácido sustituido. Por consiguiente, las CDR de la molécula de unión pueden tener diferentes grados de identidad con sus secuencias sustituidas, por ejemplo, CDR1 puede tener el 80%, mientras que CDR3 puede tener el 90%.

Las sustituciones preferidas (o reemplazos) son sustituciones conservativas. Sin embargo, cualquier sustitución (incluida la sustitución no conservativa o una o más de las “sustituciones a modo de ejemplo” enumeradas en la tabla B-1 a continuación) está pretendida siempre que el polipéptido conserve su capacidad de unirse al dominio constante del receptor de células T (TCR) presente en una célula T a través del primer ISV y a un primer antígeno en una célula diana a través del segundo ISV y/o sus CDR tienen una identidad con la secuencia sustituida en ese

momento (al menos el 60%, más preferiblemente el 65%, incluso más preferiblemente el 70%, de manera particularmente preferible el 75%, de manera más particularmente preferible el 80% idéntica a la secuencia de CDR "original").

Las sustituciones conservativas se muestran en la tabla B-1 a continuación.

Tal como se indicó anteriormente, sólo después de la inmunización rigurosa y los métodos de cribado y selección, los presentes inventores pudieron identificar los ISV que se unían a los dominios constantes de TCR. Por consiguiente, la presente invención se refiere a polipéptidos que comprenden un primer ISV elegido del grupo que consiste en SEQ ID NO:1-118 (remítase a la tabla A-4). El análisis de secuencia demostró además que todos los ISV que se unían a TCR comprendían una CDR3 muy similar. Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido según la invención en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos X_1SR X_2X_3PYX_4Y, en la que X_1 es F, Y, G, L o K, X_2 es I o L, X_3 es Y o W, y X_4 es D, N o S.

El análisis de secuencia reveló además que sólo hay un número limitado de variaciones de secuencia en las CDR (remítase al ejemplo 4.2 y las tablas A-1 a A-3).

Tabla B-1: Sustituciones de aminoácidos

Original	Sustituciones a modo de ejemplo	Sustituciones preferidas
Ala (A)	val, leu, ile	val
Arg (R)	lys, gln, asn	lys
Asn (N)	gln, his, asp, lys, arg	gln
Asp (D)	glu, asn	glu
Cys (C)	ser, ala	ser
Gln (Q)	asn, glu	asn
Glu (E)	asp, gln	asp
Gly (G)	ala	ala
His (H)	asn, gln, lys, arg	arg
Ile (I)	leu, val, met, ala, phe	leu
Leu (L)	norleucina, ile, val, met, ala	ile
Lys (K)	arg, gln, asn	arg
Met (M)	leu, phe, ile	leu
Phe (F)	leu, val, ile, ala, tyr	tyr
Pro (P)	ala	ala
Ser(s)	thr	thr
Thr (T)	ser	ser
Trp (W)	tyr, phe	tyr
Tyr (Y)	trp, phe, thr, ser	phe
Val (V)	ile, leu, met, phe, ala	leu

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:119-133; o

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:123 o con cualquiera de SEQ ID NO:119-133; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:134-163; o

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:153 o con cualquiera de SEQ ID NO:134-163; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:164-174; o

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:170 o con cualquiera de SEQ ID NO:164-174.

Otras secuencias CDR preferidas se representan en la tabla A-4.

Generalmente, se prefieren las combinaciones de CDR enumeradas en la tabla A-4 (es decir, las mencionadas en la misma línea en la tabla A-4). Por tanto, generalmente se prefiere que, cuando una CDR en un ISV sea una secuencia de CDR mencionada en la tabla A-4 o elegida adecuadamente del grupo que consiste en secuencias de CDR que tienen 4, 3, 2 o sólo 1 diferencia(s) de aminoácidos con una secuencia de CDR enumerada en la tabla A-4, que al menos una y preferiblemente las otras dos CDR se elijan adecuadamente de las secuencias de CDR que pertenecen a la misma combinación en la tabla A-4 (es decir, mencionadas en la misma línea en la tabla A-4) o se elijan adecuadamente del grupo que consiste en secuencias de CDR que tienen 4, 3, 2 o sólo 1 diferencia(s) de aminoácidos con las secuencias de CDR que pertenecen a la misma combinación.

El análisis de secuencia de los agentes de unión resultantes dio como resultado la identificación de 3 agrupaciones distintas. Se proporcionan alineaciones correspondientes (véanse la tabla A-1, Tabla A-2 y Tabla A-3). El agrupamiento se basó en similitudes de secuencia y diferencias en CDR2 y CDR3. La agrupación A es la más destacada, comprendiendo 104 clones (SEQ ID NO:1-104), la agrupación B comprende 11 clones (SEQ ID NO:105-115) y la agrupación C está representada por sólo 3 clones (SEQ ID NO:116-118) El agrupamiento basado en las similitudes y diferencias estructurales en la secuencia de aminoácidos se tradujo en similitudes y diferencias funcionales según lo revelado por los ejemplos. Los representantes de todas las agrupaciones se aislaron basándose en la unión de alta afinidad al dominio constante del TCR (ejemplos 3 y 4) y la activación de células T humanas (ejemplo 4.2). En general, los representantes de la agrupación A demostraron los mejores valores de CE50. Además, los representantes de la agrupación A reaccionaron de manera cruzada con el dominio constante del TCR de macaco cangrejero (véase el ejemplo 18). Aunque los representantes de la agrupación C tenían valores de CE50 algo menos favorables que los representantes de la agrupación B, los representantes de la agrupación C tenían menores valores de CI50 en un ensayo de destrucción de Ramos mediada por células T basado en citometría de flujo (véase el ejemplo 10).

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:123; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2, 3 ó 4 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:123, en las que

- en la posición 2, el D se ha cambiado a, S, E o G;
- en la posición 4, la H se ha cambiado a Y;
- en la posición 5, la K se ha cambiado a L;
- en la posición 6, la I se ha cambiado a L;
- en la posición 8, la F se ha cambiado a I o V; y/o
- en la posición 10, la G se ha cambiado a S.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR2 se elige del

grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:153; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2, 3 ó 4 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:153, en las que

- en la posición 1, la H se ha cambiado a T o R;
- en la posición 3, la S se ha cambiado a T o A;
- en la posición 5, la G se ha cambiado a S o A;
- en la posición 7, la Q se ha cambiado a D, E, T, A o V;
- en la posición 8, la T se ha cambiado a A o V; y/o
- en la posición 9, el D se ha cambiado a A, Q, N, V o S.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR3 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:170; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2, 3 ó 4 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:170, en las que

- en la posición 1, la F se ha cambiado a Y, L o G;
- en la posición 4, la I se ha cambiado a L;
- en la posición 5, la Y se ha cambiado a W; y/o
- en la posición 8, el D se ha cambiado a N o S.

En una realización, la invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:119-123, 125-127, 129, 132 y 133; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:123; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:134-141, 143-144, 146-156, 159-163; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:153; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:164-166, 169-171, 173-174; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 3, 2 ó 1 aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:170.

En una realización, la invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que: CDR1 está representada por

SEQ ID NO:123, CDR2 está representada por SEQ ID NO:153 y CDR3 está representada por SEQ ID NO:170.

Los Nanobodies de la agrupación B muestran una variabilidad de secuencia relativamente limitada en las CDR.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:124; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1 ó 2 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:124, en las que

- en la posición 2, el E se ha cambiado a Q; y/o
- en la posición 6, la I se ha cambiado a V.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:145; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:145, en las que

- en la posición 9, la N se ha cambiado a D.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR3 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:167; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:167, en las que

- en la posición 4, la L se ha cambiado a I.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:124, 128 y 131; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:124; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:142 y 145; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:145; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:167 y 168; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 3, 2 ó 1 aminoácidos con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:167.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3

regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que: CDR1 está representada por SEQ ID NO:124, CDR2 está representada por SEQ ID NO:145 y CDR3 está representada por SEQ ID NO:167.

En la agrupación C, la variación de secuencia es aún más limitada que dentro de las otras agrupaciones.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:157; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:157, en la que

- en la posición 8, la T se ha cambiado a I.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:130; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:130; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:157-158; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:157; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:172; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:172.

En un aspecto, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que: CDR1 está representada por SEQ ID NO:130, CDR2 está representada por SEQ ID NO:157 y CDR3 está representada por SEQ ID NO:172.

El segundo dominio variable único de inmunoglobulina (ISV) del polipéptido de la invención tiene una alta afinidad por/se une a un antígeno en una célula diana, preferiblemente una célula cancerosa. Una “célula diana” tal como se hace referencia en el presente documento, es una célula que presenta un antígeno particular en su superficie. En un aspecto preferido, la “célula diana” es una célula cancerosa.

La membrana (también llamada membrana plasmática o bicapa de fosfolípidos) rodea el citoplasma de una célula, que es el límite exterior de la célula, es decir, la membrana es la superficie de la célula. Esta membrana sirve para separar y proteger una célula de su entorno y está compuesta principalmente por una doble capa de fosfolípidos. Incluidas dentro de esta membrana hay una variedad de moléculas proteicas, tal como canales, bombas y receptores celulares. Como la membrana es fluida, las moléculas proteicas pueden desplazarse dentro de la membrana. El término “antígeno en una célula diana” tal como se usa en el presente documento indica una molécula, que se presenta en la superficie de una célula. En la mayoría de los casos, esta molécula se ubicará dentro o sobre la membrana plasmática de la célula de manera que al menos parte de esta molécula permanezca accesible desde el exterior de la célula en forma terciaria. Un ejemplo no limitativo de una molécula de superficie celular, que se encuentra en la membrana plasmática, es una proteína transmembrana que comprende, en su conformación terciaria, regiones de hidrofilia e hidrofobicidad. En el presente documento, al menos una región hidrofóbica permite que la molécula de la superficie celular se incluya o inserte en la membrana plasmática hidrofóbica de la célula, mientras que las regiones hidrófilas se extienden a cada lado de la membrana plasmática

hacia el citoplasma y el espacio extracelular, respectivamente.

Dicho antígeno puede ser cualquier diana en una célula, por ejemplo un antígeno tumoral. En una realización preferida, dicho antígeno es específico para dicha célula diana, por ejemplo célula cancerosa, tal como un antígeno asociado a tumores (TAA) en dicha célula cancerosa.

El término "antígeno tumoral" tal como se usa en el presente documento puede entenderse como aquellos antígenos que se presentan en las células tumorales. Estos antígenos pueden presentarse en la superficie celular con una parte extracelular, que a menudo se combina con una parte transmembrana y citoplasmática de la molécula. A veces, estos antígenos pueden presentarse sólo por células tumorales y nunca por una célula normal o sana. Los antígenos tumorales pueden expresarse exclusivamente en las células tumorales o pueden representar una mutación específica del tumor en comparación con las células normales. En este caso, se denominan antígenos específicos de tumores. Sin embargo, este no será el caso en general. Más comunes son los antígenos que presentan las células tumorales y las células normales, y se denominan "antígenos asociados a tumores (TAA)". Estos antígenos asociados a tumores pueden sobreexpresarse en las células tumorales en comparación con las células normales o son más accesibles para la unión de anticuerpos en las células tumorales debido a la estructura menos compacta del tejido tumoral en comparación con el tejido normal. Los TAA son preferiblemente antígenos que se expresan en células de tumores particulares, pero que preferiblemente no se expresan en células normales. A menudo, los TAA son antígenos que se expresan normalmente en células sólo en puntos particulares del desarrollo de un organismo (tal como durante el desarrollo fetal) y que se expresan de manera inapropiada en el organismo en el momento actual del desarrollo, o son antígenos que no se expresan en células o tejidos normales de un órgano que ahora expresa el antígeno.

En una realización, dicho primer antígeno en una célula diana es un antígeno tumoral, preferiblemente un antígeno asociado a tumores (TAA).

En una realización, dicho segundo antígeno en una célula diana es un antígeno tumoral, preferiblemente un antígeno asociado a tumores (TAA).

En una realización, dicho antígeno está presente más abundantemente en una célula cancerosa que en una célula normal. El antígeno en una célula diana es preferiblemente un antígeno asociado a tumores (TAA). Los TAA preferidos incluyen MART-1, antígeno carcinoembrionario ("CEA"), gp100, MAGE-1, HER-2, CD20, antígenos de Lewis^{Y}, proteoglicano de sulfato de condroitina asociado a melanoma (MCSP), receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), proteína de activación de fibroblastos (FAP), CD19 y CD33.

Los antígenos de superficie celular que se expresan preferentemente en CML de LMA en comparación con las células madre hematopoyéticas normales y, por tanto, preferidos como TAA, incluyen CD123, CD44, CLL-1, CD96, CD47, CD32, CXCR4, Tim-3 y CD25.

Otros antígenos asociados a tumores adecuados como antígeno en una célula diana para la unión por el segundo ISV dentro de los polipéptidos de la invención incluyen: TAG-72, Ep-CAM, PSMA, PSA, glicolípidos tales como GD2 y GD3.

El TAA de la invención también incluye antígenos de diferenciación hematopoyética, es decir, glicoproteínas asociadas habitualmente con los grupos de diferenciación de agrupaciones (CD, *cluster differentiation*), tales como CD4, CD5, CD19, CD20, CD22, CD33, CD36, CD45, CD52, CD69 y CD147; receptores de factores de crecimiento, incluyendo HER2, ErbB3 y ErbB4; receptores de citocinas, incluyendo la cadena gamma del receptor de interleucina-2 (antígeno CD132), la cadena alfa del receptor de interleucina-10 (IL-10R-A), cadena beta del receptor de interleucina-10 (IL-10R-B), cadena beta-1 del receptor de interleucina-12 (IL-12R-beta1), cadena beta-2 del receptor de interleucina-12 (receptor de IL-12 beta-2), cadena alfa-1 del receptor de interleucina-13 (IL-13R-alfa-1) (antígeno CD213a1), cadena alfa-2 del receptor de interleucina-13 (proteína de unión a interleucina-13), receptor de interleucina-17 (receptor de IL-17), receptor de interleucina-17B (receptor de IL-17B), precursor del receptor de interleucina 21 (IL-21R), interleucina-1 receptor tipo I (IL-1R-1) (CD121a), receptor de interleucina-1 tipo II (IL-1R-beta) (CDw121b), proteína antagonista del receptor de interleucina-1 (IL-1ra), cadena alfa del receptor de interleucina-2 (antígeno CD25), cadena beta del receptor de interleucina-2 (antígeno CD122), cadena alfa del receptor de interleucina-3 (IL-3R-alfa) (antígeno CD123); así como otros, tales como CD30, IL23R, IGF-1R, IL5R, IgE, CD248 (endosialina), CD44v6, gpA33, Ron, Trop2, PSCA, claudina 6, claudina 18.2, CLEC12A, CD38, ephA2, c-Met, CD56, MUC16, EGFRvIII, AGS-16, CD27L, nectina-4, SLITRK6, mesotelina, receptor de folato, factor tisular, axl, glipicano-3, CA9, Cripto, CD138, CD37, MUC1, CD70, receptor de péptido liberador de gastrina, PAP, CEACAM5, CEACAM6, CXCR7, N-cadherina, FXYD2 gamma a, CD21, CD133, Na/K-ATPasa, mIgM (IgM unida a membrana), mIgA (IgA unida a membrana), Mer, Tyro2, CD120, CD95, CA 195, DR5, DR6, DcR3 y CAIX.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho TAA se elige del grupo que consiste en proteoglicano de sulfato de condroitina asociado a melanoma (MCSP), receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), proteína de activación de fibroblastos (FAP), MART-1, antígeno carcinoembrionario ("CEA"), gp100, MAGE-1, HER-2, antígenos de Lewis^{Y}, CD123, CD44,

CLL-1, CD96, CD47, CD32, CXCR4, Tim-3, CD25, TAG-72, Ep-CAM, PSMA, PSA, GD2, GD3, CD4, CD5, CD19, CD20, CD22, CD33, CD36, CD45, CD52, CD147; receptores de factores de crecimiento, incluyendo ErbB3 y ErbB4; receptores de citocinas, incluyendo la cadena gamma del receptor de interleucina-2 (antígeno CD132), cadena alfa del receptor de interleucina-10 (IL-10R-A), cadena beta del receptor de interleucina-10 (IL-10R-B), cadena beta-1 del receptor de interleucina-12 (IL-12R-beta1), cadena beta-2 del receptor de interleucina-12 (receptor de IL-12 beta-2), cadena alfa-1 del receptor de interleucina-13 (IL-13R-alfa-1) (antígeno CD213a1), cadena alfa-2 del receptor de interleucina-13 (proteína de unión a interleucina-13), receptor de interleucina-17 (receptor de IL-17), receptor de interleucina-17B (receptor de IL-17B), precursor del receptor de interleucina 21 (IL-21R), interleucina-1 receptor tipo I (IL-1R-1) (CD121a), receptor de interleucina-1 tipo II (IL-1R-beta) (CDw121b), proteína antagonista del receptor de interleucina-1 (IL-1ra), cadena alfa del receptor de interleucina-2 (antígeno CD25), cadena beta del receptor de interleucina-2 (antígeno CD122), cadena alfa del receptor de interleucina-3 (IL-3R-alfa) (antígeno CD123), CD30, IL23R, IGF-1R, IL5R, IgE, CD248 (endosialina), CD44v6, gpA33, Ron, Trop2, PSCA, claudina 6, claudina 18.2, CLEC12A, CD38, ephA2, c-Met, CD56, MUC16, EGFRvIII, AGS-16, CD27L, nectina-4, SLITRK6, mesotelina, receptor de folato, factor tisular, axl, glipicano-3, CA9, Cripto, CD138, CD37, MUC1, CD70, receptor de péptido liberador de gastrina, PAP, CEACAM5, CEACAM6, CXCR7, N-cadherina, FXYD2 gamma a, CD21, CD133, Na/K-ATPasa, mIgM (IgM unida a membrana), mIgA (IgA unida a membrana), Mer, Tyro2, CD120, CD95, CA 195, DR5, DR6, DcR3 y CAIX, y las variantes polimórficas e isoformas relacionadas, preferiblemente dicho TAA es CD20 (UniProt 11836), HER2 (Uniprot P04626), EGFR o CEACAM, variantes polimórficas y/o isoformas de los mismos.

El segundo elemento estructural, ISV, Nanobody o VHH de la invención tiene una alta afinidad por su antígeno. El segundo elemento estructural, ISV o Nanobody de la invención puede dirigirse, por ejemplo, contra un determinante antigénico, epítopo, parte, dominio, subunidad o confirmación (cuando corresponda) de dicho antígeno en una célula diana.

La célula diana de la invención se refiere en particular a células de mamífero, preferiblemente a células de primates, e incluso más preferiblemente a células humanas. La célula diana es preferiblemente una célula hiperproliferativa tal como, por ejemplo una célula cancerosa.

La presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ISV segundo o adicional se une a un antígeno en una célula diana con un valor de KD promedio de entre 100 nM y 10 pM, tal como a un valor de KD promedio de 90 nM o menos, incluso más preferiblemente a un valor de KD promedio de 80 nM o menos, tal como menos de 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 nM o incluso menos, tal como menos de 4, 3, 2 ó 1 nM, tal como menos de 500, 400, 300, 200, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20 pM, o incluso menos, tal como menos de 10 pM. Preferiblemente, la KD se determina mediante Kinexa, BLI o SPR, por ejemplo, tal como se determina mediante Proteon.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ISV segundo o adicional tiene una alta afinidad por su antígeno cuando se mide como monovalente.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicha KD promedio se mide mediante resonancia de plasmón superficial (SPR) y/o KinExA o Proteon, por ejemplo en proteína recombinante, tal como se describe en la sección de Ejemplos.

La presente invención también se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ISV segundo o adicional se une a un antígeno en una célula diana con un valor de CE50 de entre 100 nM y 1 pM, tal como a un valor promedio de CE50 de 100 nM o menos, incluso más preferiblemente a un valor de CE50 promedio de 90 nM o menos, tal como menos de 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 nM o incluso menos, tal como menos de 4, 3, 2, o 1 nM o incluso menos, tal como menos de 500, 400, 300, 200, 100, 90, 80, 70, 60, 50, 40, 30, 20, 10, 5 pM, o incluso menos, tal como menos de 4 pM.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicha CE50 promedio se determina mediante FACS o ELISA, en un segundo ISV monovalente, tal como un Nanobody, o un polipéptido que comprende un segundo ISV monovalente, tal como un Nanobody.

Se ha demostrado en los ejemplos que la KD se correlaciona bien con la CE50.

La selección como diana simultánea de múltiples antígenos puede reducir la probabilidad de generar variantes de escape tumoral, por lo que se mejora la actividad terapéutica de la estrategia de compromiso de células T. La presente invención proporciona polipéptidos multiespecíficos que comprenden un ISV de TCR combinado con dominios variables únicos de inmunoglobulina contra diferentes antígenos (dianas) (en una célula diana). A continuación se proporcionan combinaciones preferidas de antígenos primero y segundo (se apreciará que los ISV que se unen a dichos antígenos pueden situarse en cualquier orden en el polipéptido de la invención):

primer antígeno	segundo antígeno
EGFR (OMIM:131550)	CD20 (OMIM:112210)
EGFR (OMIM:131550)	CEA (OMIM:114890)
EGFR (OMIM:131550)	HER2 (OMIM:164870)
HER2 (OMIM:164870)	CD20 (OMIM:112210)
HER2 (OMIM:164870)	CEA (OMIM:114890)
CD20 (OMIM:112210)	CEA (OMIM:114890)

De manera similar, la selección como diana simultánea de múltiples epítopos, determinantes antigénicos, partes, dominios, subunidades o conformaciones de una proteína o un antígeno en una célula diana puede reducir la probabilidad de generar variantes de escape tumoral, por lo que se mejora la actividad terapéutica de la estrategia de compromiso de células T. (remítase al ejemplo 22). La presente invención proporciona polipéptidos que comprenden un ISV anti-TCR combinado con dominios variables únicos de inmunoglobulina contra diferentes epítopos, determinantes antigénicos, partes, dominios, subunidades o conformaciones de un antígeno en una célula diana (también denominados constructos biparatópicos). Las combinaciones preferidas de los ISV de TAA primero y segundo se proporcionan a continuación (se apreciará que los ISV que se unen a dichos antígenos pueden situarse en cualquier orden en el polipéptido de la invención):

ISV de TAA1	nombre	SEQ ID NO:	TAA2 ISV	nombre	SEQ ID NO:
EGFR-1	7D12	355	EGFR-2	9G08	352
HER2-1	5F07	350	HER2-2	47D05	351
CEA-1	CEA #1	353	CEA-2	CEA #5	354

Los polipéptidos y las composiciones de la presente invención pueden usarse para la prevención y/o el tratamiento de enfermedades y trastornos de la presente invención (en el presente documento también “enfermedades y trastornos de la presente invención”) incluyendo, pero sin limitarse a cáncer. El término “cáncer” se refiere al estado patológico en mamíferos que se caracteriza normalmente por la proliferación o supervivencia celular desregulada. Los ejemplos de cáncer incluyen, entre otros, carcinomas, gliomas, mesoteliomas, melanomas, linfomas, leucemias, adenocarcinomas: cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer cervicouterino, glioblastoma, mieloma múltiple (incluida la gammapatía monoclonal de significación indeterminada, mieloma asintomático y sintomático)), cáncer de próstata y linfoma de Burkitt, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer de páncreas, cáncer hepatobiliar, cáncer de vesícula biliar, cáncer de intestino delgado, cáncer rectal, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de pene, cáncer de uretra, cáncer de testículo, cáncer de vagina, cáncer uterino, cáncer de tiroides, cáncer de paratiroides, cáncer suprarrenal, cáncer de páncreas endocrino, cáncer carcinoide, cáncer de hueso, cáncer de piel, retinoblastomas, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Castleman multicéntrica o linfoma primario de cavidades asociado al SIDA, tumores neuroectodérmicos, rabdomiosarcoma (véase, por ejemplo, Cancer, Principles and Practice (DeVita *et al*. Eds 1997) para cánceres adicionales); así como cualquier metástasis de cualquiera de los cánceres anteriores, así como indicaciones distintas de cáncer tales como poliposis nasal, así como otros trastornos y enfermedades descritos en el presente documento.

Para una descripción general de los dominios variables únicos de inmunoglobulina, se hace referencia a la descripción adicional a continuación, así como a la técnica anterior citada en el presente documento. A este respecto, sin embargo, debe observarse que esta descripción y la técnica anterior describen principalmente dominios variables únicos de inmunoglobulina de la denominada “clase V_H3” (es decir, dominios variables únicos de inmunoglobulina con un alto grado de homología de secuencia con secuencias de línea germinal humana de la clase V_H3 tales como DP-47, DP-51 o DP-29), que forman un aspecto preferido de esta invención. Sin embargo, debe observarse que la invención en su sentido más amplio cubre generalmente cualquier tipo de dominios variables únicos de inmunoglobulina y, por ejemplo, también cubre los dominios variables únicos de inmunoglobulina que pertenecen a la denominada “clase V_H4” (es decir, dominios variables únicos de inmunoglobulina con un alto grado de homología de secuencia con secuencias de línea germinal humana de la clase V_H4 tales como DP-78), tal como, por ejemplo se describe en el documento WO 07/118670.

En general, los dominios variables únicos de inmunoglobulina (en particular secuencias de V_{HH} y dominios variables únicos de inmunoglobulina de secuencia optimizada) pueden caracterizarse en particular por la presencia de uno o más “*residuos distintivos”* (tal como se describe, por ejemplo, en la tabla B2) en una o más de las secuencias de entramado (de nuevo tal como se describe adicionalmente en el presente documento).

Tabla B-2: Residuos distintivos en VHH

Posición	V humana$_H$3	Residuos distintivos
11	L, V; predominantemente L	L, S, V, M, W, F, T, Q, E, A, R, G, K, Y, N, P, I; preferiblemente L
37	V, I, F; generalmente V	F(1), Y, V, L, A, H, S, I, W, C, N, G, D, T, P, preferiblemente F(1) o Y
44(8)	G	E(3)Q(3), G(2), D, A, K, R, L, P, S, V, H, T, N, W, M, I; preferiblemente G(2), E(3) o Q(3); lo más preferiblemente G(2) o Q(3).
45(8)	L	L(2), R(3), P, H, F, G, Q, S, E, T, Y, C, I, D, V; preferiblemente L(2) o R(3)
47(8)	W, Y	F(1), L(1) o W(2) G, I, S, A, V, M, R, Y, E, P, T, C, H, K, Q, N, D; preferiblemente W(2), L(1) o F(1)
83	R o K; habitualmente R	R, K(5), T, E(5), Q, N, S, I, V, G, M, L, A, D, Y, H; preferiblemente K o R; lo más preferiblemente K
84	A, T, D; predominantemente A	P(5), S, H, L, A, V, I, T, F, D, R, Y, N, Q, G, E; preferiblemente P
103	W	W(4), R(6), G, S, K, A, M, Y, L, F, T, N, V, Q, P(6), E, C; preferiblemente W
104	G	G, A, S, T, D, P, N, E, C, L; preferiblemente G
108	L, M o T; predominantemente L	Q, L(7), R, P, E, K, S, T, M, A, H; preferiblemente Q o L(7)

Notas:
(1) En particular, pero no exclusivamente, en combinación con KERE o KQRE en las posiciones 43-46.
(2) Habitualmente, como GLEW en las posiciones 44-47.
(3) Habitualmente, como KERE o KQRE en las posiciones 43-46, por ejemplo como KEREL, KEREF, KQREL, KQREF, KEREG, KQREW o KQREG en las posiciones 43-47. Alternativamente, también secuencias como TERE (por ejemplo, TEREL), TQRE (por ejemplo, TQREL), KECE (por ejemplo, KECEL o KECER), KQCE (por ejemplo, KQCEL), RERE (por ejemplo, REREG), RQRE (por ejemplo, RQREL, RQREF o RQREW), QERE (por ejemplo, QEREG), QQRE, (por ejemplo, QQREW, QQREL o QQREF), KGRE (por ejemplo, KGREG), KDRE (por ejemplo, KDREV). Algunas otras secuencias posibles, pero menos preferidas incluyen, por ejemplo, DECKL y NVCEL.
(4) Con tanto GLEW en las posiciones 44-47 como KERE o KQRE en las posiciones 43-46.
(5) A menudo como KP o EP en las posiciones 83-84 de dominios V_{HH} naturales
(6) En particular, pero no exclusivamente, en combinación con GLEW en las posiciones 44-47.
(7) Con la condición de que cuando las posiciones 44-47 son GLEW, la posición 108 es siempre Q en secuencias de V_{HH} (no humanizadas) que también contienen un W en 103.
(8) El grupo GLEW también contiene secuencias similares a GLEW en las posiciones 44-47, como, por ejemplo GVEW, EPEW, GLER, DQEW, DLEW, GIEW, ELEW, GPEW, EWLP y GPER.

Las inmunoglobulinas de la invención también pueden contener una extensión C-terminal (X)n (en la que n es de 1 a 10, preferiblemente de 1 a 5, tal como 1, 2, 3, 4 ó 5 (y preferiblemente 1 ó 2, tal como 1); y cada X es un residuo de aminoácido (preferiblemente que se produce de manera natural) que se elige independientemente, y preferiblemente se elige independientemente del grupo que consiste en alanina (A), glicina (G), valina (V), leucina (L) o isoleucina (I)), para lo que se hace referencia a los documentos WO 12/175741 y WO 15/060643.

Aparte de esto y/o además, la inmunoglobulina de la invención puede tener determinados residuos de aminoácido preferidos en las posiciones 11, 89, 110 y/o 112 tal como se describe con más detalle en el documento WO 15/060643.

De nuevo, tales dominios variables únicos de inmunoglobulina pueden derivar de cualquier manera adecuada y de cualquier fuente adecuada, y pueden ser, por ejemplo, secuencias de V_{HH} (es decir, de una especie adecuada de camélido, por ejemplo, llama) o VH o VL sintéticos o semisintéticos (por ejemplo, de humano). Tales dominios variables únicos de inmunoglobulina pueden incluir VHH "humanizados" o de "secuencia optimizada" de otra manera, secuencias de inmunoglobulinas "camelizadas" (y en particular secuencias de dominios variables de cadena pesada camelizados, es decir, VH camelizados), así como VH humanos, VL humanos, VHH de camélidos que se han alterado mediante técnicas tales como la maduración por afinidad (por ejemplo, partiendo de secuencias de inmunoglobulina sintéticas, al azar o que se producen de manera natural), injerto de CDR, remodelación de superficie, combinación de fragmentos derivados de diferentes secuencias de inmunoglobulina, ensamblaje de PCR usando cebadores solapantes y técnicas similares para diseñar secuencias de inmunoglobulina bien conocidas por los expertos; o cualquier combinación adecuada de cualquiera de los anteriores tal como se describe adicionalmente en el presente documento. Tal como se menciona en el presente documento, una clase particularmente preferida de dominios variables únicos de inmunoglobulina de la invención comprende dominios variables únicos de inmunoglobulina con una secuencia de aminoácidos que corresponde a la secuencia de aminoácidos de un dominio V_{HH} que se produce de manera natural, pero que se ha "humanizado", es decir, reemplazando uno o más residuos

de aminoácido en la secuencia de aminoácidos de dicha secuencia de V_{HH} que se produce de manera natural (y en particular en las secuencias de entramado) por uno o más de los residuos de aminoácido que se producen en la(s) posición/posiciones correspondiente(s) en un dominio V_H de un anticuerpo de 4 cadenas convencional de un ser humano (por ejemplo, tal como se indicó anteriormente). Esto puede realizarse de una manera conocida *per se*, que estará clara para el experto en la técnica, por ejemplo, basándose en la descripción adicional en el presente documento y la técnica anterior sobre humanización a la que se hace referencia en el presente documento. De nuevo, debe observarse que tales dominios variables únicos de inmunoglobulina humanizados de la invención pueden obtenerse de cualquier manera adecuada conocida *per se* y, por tanto, no están limitados estrictamente a polipéptidos que se han obtenido usando un polipéptido que comprende un dominio V_{HH} que se produce de manera natural como material de partida.

Otra clase particularmente preferida de dominios variables únicos de inmunoglobulina de la invención comprende dominios variables únicos de inmunoglobulina con una secuencia de aminoácidos que corresponde a la secuencia de aminoácidos de un dominio V_{HH} que se produce de manera natural, pero que se ha "camelizado", es decir, reemplazando uno o más residuos de aminoácido en la secuencia de aminoácidos de una dominio V_H que se produce de manera natural de un anticuerpo de 4 cadenas convencional por uno o más de los residuos de aminoácido que se producen en las posiciones correspondientes en un dominio V_{HH} de un anticuerpo de cadena pesada. Esto puede realizarse de una manera conocida *per se*, que estará clara para el experto en la técnica, por ejemplo, basándose en la descripción en el presente documento contenida. Tales sustituciones "de camelización" se insertan preferiblemente en las posiciones de aminoácidos que se forman y/o están presentes en la superficie de contacto V_H-V_L, y/o en los denominados residuos distintivos de *Camelidae*, tal como se define en el presente documento (véase también, por ejemplo, el documento WO 94/04678 y Davies y Riechmann 1994 (FEBS Letters 339: 285-290) y 1996 (Protein Engineering 9: 531-537)). Preferiblemente, la secuencia de V_H que se usa como material de partida o punto de partida para generar o diseñar los dominios variables únicos de inmunoglobulina camelizados es preferiblemente una secuencia de V_H de un mamífero, más preferiblemente la secuencia de V_H de un ser humano, tal como una secuencia de V_H3. Sin embargo, debe observarse que tales dominios variables únicos de inmunoglobulina camelizados de la invención pueden obtenerse de cualquier manera adecuada conocida *per se* y, por tanto, no están limitados estrictamente a polipéptidos que se han obtenido usando un polipéptido que comprende un dominio V_{HH} que se produce de manera natural como material de partida.

Por ejemplo, de nuevo tal como se describe adicionalmente en el presente documento, tanto la "humanización" como la "camelización" pueden realizarse proporcionando una secuencia de nucleótidos que codifica para un dominio V_H o dominio V_{HH} que se produce de manera natural, respectivamente, y luego cambiando, de una manera conocida *per se*, uno o más codones en dicha secuencia de nucleótidos de tal manera que la nueva secuencia de nucleótidos codifique para un dominio variable único de inmunoglobulina "humanizado" o "camelizado" de la invención, respectivamente. Este ácido nucleico puede expresarse entonces de una manera conocida *per se*, para proporcionar los dominios variables únicos de inmunoglobulina deseados de la invención. Alternativamente, basándose en la secuencia de aminoácidos de un dominio V_H o dominio V_{HH} que se produce de manera natural, respectivamente, la secuencia de aminoácidos de los dominios variables únicos de inmunoglobulina humanizados o camelizados deseados de la invención, respectivamente, puede diseñarse y luego sintetizarse *de novo* usando técnicas para la síntesis peptídica conocidas *per se*. Además, en función de la secuencia de aminoácidos o la secuencia de nucleótidos de un dominio V_H o dominio V_{HH} que se produce de manera natural, respectivamente, una secuencia de nucleótidos que codifica para los dominios variables únicos de inmunoglobulina humanizados o camelizados deseados de la invención, respectivamente, puede diseñarse y luego sintetizarse *de novo* usando técnicas para la síntesis de ácido nucleico conocidas *per se*, después de lo cual el ácido nucleico así obtenido puede expresarse de una manera conocida *per se*, para proporcionar los dominios variables únicos de inmunoglobulina deseados de la invención.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ISV es un Nanobody, un V_{HH}, un V_{HH} humanizado o un V_H camelizado.

En general, las proteínas o los polipéptidos que comprenden o consisten esencialmente en un elemento estructural único, un dominio variable único de inmunoglobulina individual o un Nanobody único se denominarán en el presente documento proteínas o polipéptidos "monovalentes", como "constructos monovalentes", como "elemento estructural monovalente", como "dominio variable único de inmunoglobulina monovalente", o como "Nanobody monovalente", respectivamente.

A este respecto, la presente invención también se refiere a los elementos estructurales monovalentes que componen los polipéptidos de la invención.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un ISV o polipéptido que se une específicamente al dominio constante del receptor de células T (TCR) y que comprende o consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:119-133; o

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO:119-133, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:134-163; o

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO:134-163, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:164-174; o

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO:164-174, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

Tal como se comentó anteriormente, se aislaron ISV que pertenecen a diferentes agrupaciones, basándose en similitudes y diferencias estructurales en CDR2 y CDR3.

Los dominios variables únicos de inmunoglobulina que pertenecen a la agrupación A están representados por polipéptidos en los que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:119-123, 125-127, 129, 132 y 133; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:123, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:134-141, 143-144, 146-156, 159-163; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:153, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:164-166, 169-171, 173-174; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:170, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En otro aspecto, en los polipéptidos que pertenecen a la agrupación A, CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:123; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 1, 2 ó 3 de aminoácido(s) con SEQ ID NO:123, en las que

- en la posición 2, el D se ha cambiado a, S, E o G;
- en la posición 4, la H se ha cambiado a Y;
- en la posición 5, la K se ha cambiado a L;
- en la posición 6, la I se ha cambiado a L;
- en la posición 8, la F se ha cambiado a I o V; y/o
- en la posición 10, la G se ha cambiado a S.

En otro aspecto, en los polipéptidos que pertenecen a la agrupación A, CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:153; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2, 3, 4 ó 5 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:153, en las que

- en la posición 1, H se ha cambiado a T o R;
- en la posición 3, la S se ha cambiado a T o A;
- en la posición 5, la G se ha cambiado a S o A;
- en la posición 7, la Q se ha cambiado a D, E, T, A o V;
- en la posición 8, la T se ha cambiado a A o V; y/o
- en la posición 9, el D se ha cambiado a A, Q, N, V o S.

En otro aspecto, en los polipéptidos que pertenecen a la agrupación A, CDR3 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:170; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 1, 2 ó 3 de aminoácido(s) con SEQ ID NO:170, en las que

- en la posición 1, la F se ha cambiado a Y, L o G;
- en la posición 4, la I se ha cambiado a L;
- en la posición 5, la Y se ha cambiado a W; y/o
- en la posición 8, el D se ha cambiado a N o S.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un ISV o polipéptido que se une específicamente al dominio

constante del receptor de células T (TCR) y que comprende o consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:123; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 1, 2 ó 3 de aminoácido(s) con SEQ ID NO:123, en las que

- en la posición 2, el D se ha cambiado a, S, E o G;
- en la posición 4, la H se ha cambiado a Y;
- en la posición 5, la K se ha cambiado a L;
- en la posición 6, la I se ha cambiado a L;
- en la posición 8, la F se ha cambiado a I o V; y/o
- en la posición 10, la G se ha cambiado a S;

y

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:153; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1, 2, 3, 4 ó 5 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:153, en las que

- en la posición 1, la H se ha cambiado a T o R;
- en la posición 3, la S se ha cambiado a T o A;
- en la posición 5, la G se ha cambiado a S o A;
- en la posición 7, la Q se ha cambiado a D, E, T, A o V;
- en la posición 8, la T se ha cambiado a A o V; y/o
- en la posición 9, el D se ha cambiado a A, Q, N, V o S;

y

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:170; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 1, 2 ó 3 de aminoácido(s) con SEQ ID NO:170, en las que

- en la posición 1, la F se ha cambiado a Y, L o G;
- en la posición 4, la I se ha cambiado a L;
- en la posición 5, la Y se ha cambiado a W; y/o
- en la posición 8, el D se ha cambiado a N o S.

En otro aspecto, la invención se refiere a un polipéptido en el que CDR1 está representada por SEQ ID NO:123, CDR2 está representada por SEQ ID NO:153 y CDR3 está representada por SEQ ID NO:170. Preferiblemente, el polipéptido se selecciona de cualquiera de SEQ ID NO:1 a 104.

Los dominios variables únicos de inmunoglobulina que pertenecen a la agrupación B están representados por polipéptidos en los que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:124, 128 y 131; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:124, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:142 y 145; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:145, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:167 y 168; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:167, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En otro aspecto, en los polipéptidos que pertenecen a la agrupación B, CDR1 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:124; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1 ó 2 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:124, en las que

- en la posición 2, el E se ha cambiado a Q; y/o
- en la posición 6, la I se ha cambiado a V.

En otro aspecto, en los polipéptidos que pertenecen a la agrupación B, CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:145; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:145, en la que

- en la posición 9, la N se ha cambiado a D.

En otro aspecto, en los polipéptidos que pertenecen a la agrupación B, CDR3 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:167; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:167, en la que

- en la posición 4, la L se ha cambiado a I.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un ISV o polipéptido que se une específicamente al dominio constante del receptor de células T (TCR) y que comprende o consiste esencialmente en 4 regiones de entramado

(FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:124; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen 1 ó 2 diferencia(s) de aminoácidos con SEQ ID NO:124, en las que

- en la posición 2, el E se ha cambiado a Q; y/o
- en la posición 6, la I se ha cambiado a V;

y

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:145; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:145, en la que

- en la posición 9, la N se ha cambiado a D;

y

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:167; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:167, en la que

- en la posición 4, la L se ha cambiado a I.

En otro aspecto, la invención se refiere a un polipéptido en el que CDR1 está representada por SEQ ID NO:124, CDR2 está representada por SEQ ID NO:145 y CDR3 está representada por SEQ ID NO:167. Preferiblemente, el polipéptido se selecciona de cualquiera de SEQ ID NO:105-115.

Los dominios variables únicos de inmunoglobulina que pertenecen a la agrupación C están representados por polipéptidos en los que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:130; y

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:130, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:157-158; y

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:157, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:172; y

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:172, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a TCR con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En otro aspecto, en los polipéptidos que pertenecen a la agrupación C, CDR1 se elige de SEQ ID NO:130.

En otro aspecto, en los polipéptidos que pertenecen a la agrupación C, CDR2 se elige del grupo que consiste en

(a) SEQ ID NO:157; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:157, en la que

- en la posición 8, la T se ha cambiado a I.

En otro aspecto, en los polipéptidos que pertenecen a la agrupación C, CDR3 se elige de SEQ ID NO:172.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un ISV o polipéptido que se une específicamente al dominio constante del receptor de células T (TCR) y que comprende o consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige de SEQ ID NO:130;

y

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:157; y

(b) secuencia de aminoácidos que tiene 1 diferencia de aminoácidos con SEQ ID NO:157, en la que

- en la posición 8, la T se ha cambiado a I;

y

(iii) CDR3 se elige de SEQ ID NO:172.

En otro aspecto, la invención se refiere a un polipéptido en el que CDR1 está representada por SEQ ID NO:130, CDR2 está representada por SEQ ID NO:157 y CDR3 está representada por SEQ ID NO:172. Preferiblemente, el polipéptido se selecciona de cualquiera de SEQ ID NO:116-118.

En otro aspecto, la invención se refiere a polipéptidos que bloquean de manera cruzada la unión al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los ISV o polipéptidos que pertenecen a la agrupación A, B o C.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a polipéptidos que bloquean de manera cruzada la unión al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los ISV o polipéptidos con SEQ ID NO:1-104.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a ISV o polipéptidos que bloquean de manera cruzada la unión al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los ISV o polipéptidos con SEQ ID NO:105-115.

En aún otro aspecto, la presente invención se refiere a ISV o polipéptidos que bloquean de manera cruzada la unión al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los ISV o polipéptidos con SEQ ID NO:116-118.

En otro aspecto, la invención se refiere a polipéptidos que se bloquean de manera cruzada para que no se unan al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los ISV o polipéptidos que pertenecen a la

agrupación A, B o C.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a polipéptidos que se bloquean de manera cruzada para que no se unan al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los ISV o polipéptidos que pertenecen a SEQ ID NO:1-104.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a polipéptidos que se bloquean de manera cruzada para que no se unan al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los ISV o polipéptidos que pertenecen a SEQ ID NO:105-115.

En otro aspecto, la presente invención se refiere a polipéptidos que se bloquean de manera cruzada para que no se unan al dominio constante del receptor de células T (TCR) por al menos uno de los ISV o polipéptidos que pertenecen a SEQ ID NO:116-118.

La presente invención también se refiere a un ISV o polipéptido que se une específicamente al antígeno carcinoembrionario (CEA) y que comprende o consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO: 361 (GDTYGSYWMG); o

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 361, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a CEA con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO: 363 (AINRGGGYTV); o

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO: 363, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a CEA con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmones superficiales;

y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO: 365 (SGVLGGLHEDWFNY); o

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 365, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a CEA con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmones superficiales.

En otro aspecto, la invención se refiere a un polipéptido en el que CDR1 está representada por SEQ ID NO: 361, CDR2 está representada por SEQ ID NO: 363 y CDR3 está representada por SEQ ID NO: 365. Los polipéptidos preferidos incluyen SEQ ID NO: 353 y 354.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a polipéptidos que bloquean de manera cruzada la unión al antígeno carcinoembrionario (CEA) por al menos uno de los ISV o polipéptidos con SEQ ID NO: 353 o 354.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a polipéptidos que se bloquean de manera cruzada para que no se unan al antígeno carcinoembrionario (CEA) por al menos uno de los ISV o polipéptidos con SEQ ID NO: 353 o 354.

La presente invención también se refiere a un ISV o polipéptido que se une específicamente a CD20 y que comprende o consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones

determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO: 362 (GGTFSSYTMG); o

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 362, siempre que el polipéptido que comprende la CDR1 con la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a CD20 con una afinidad aproximadamente igual o mayor en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR1 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial;

y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO: 364 (EVRWGGVTT); o

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de cualquiera de SEQ ID NO: 364, siempre que el polipéptido que comprende la CDR2 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a CD20 con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR2 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmones superficiales;

y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO: 366 (VRQMYMTVVPDY); o

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 366, siempre que el polipéptido que comprende la CDR3 con una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) se una a CD20 con aproximadamente la misma o mayor afinidad en comparación con la unión por el polipéptido que comprende la CDR3 sin la diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s), siendo dicha afinidad tal como se mide mediante resonancia de plasmones superficiales.

En otro aspecto, la invención se refiere a un polipéptido en el que CDR1 está representada por SEQ ID NO: 362, CDR2 está representada por SEQ ID NO: 364 y CDR3 está representada por SEQ ID NO: 366. Un polipéptido preferido incluye SEQ ID NO: 357.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a polipéptidos que bloquean de manera cruzada la unión a CD20 por el ISV o el polipéptido con SEQ ID NO: 357.

En un aspecto adicional, la invención se refiere a polipéptidos que se bloquean de manera cruzada para que no se unan a CD20 por el ISV o el polipéptido con SEQ ID NO: 357.

La invención se refiere además a compuestos o constructos, y en particular proteínas o polipéptidos que comprenden o consisten esencialmente en uno o más ISV o polipéptidos de la invención, y opcionalmente comprenden además uno o más de otros grupos, residuos, restos o unidades de unión. Tal como estará claro para el experto a partir de la divulgación adicional en el presente documento, tales grupos, residuos, restos, unidades de unión o secuencias de aminoácidos adicionales pueden proporcionar o no funcionalidad adicional al polipéptido de la invención (y/o al compuesto o constructo en el que está presente) y puede modificar o no las propiedades del polipéptido de la invención.

En un aspecto específico, pero no limitativo de la invención, que se describirá adicionalmente en el presente documento, los ISV y los polipéptidos de la invención pueden tener una semivida aumentada en suero (tal como se describe adicionalmente en el presente documento) en comparación con el polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina del que derivaron. Por ejemplo, un polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina de la invención puede ligarse (químicamente o de otro modo) a uno o más grupos o restos que extienden la semivida (tales como PEG), para proporcionar un derivado del ISV o polipéptido de la invención con semivida aumentada.

En un aspecto específico de la invención, un compuesto o constructo de la invención o un polipéptido de la invención puede tener una semivida aumentada, en comparación con el ISV o polipéptido correspondiente de la invención.

Algunos ejemplos preferidos, pero no limitativos, de tales compuestos, constructos y polipéptidos estarán claros para el experto basándose en la divulgación adicional en el presente documento, y, por ejemplo comprenden polipéptidos o dominios variables únicos de inmunoglobulina de la invención que se han modificado químicamente para aumentar el semivida de los mismos (por ejemplo, por medio de pegilación); polipéptidos o dominios variables únicos de inmunoglobulina de la invención que comprenden al menos un sitio de unión adicional para unirse a una proteína sérica (tal como albúmina sérica); o constructos o polipéptidos de la invención que comprenden al menos ISV o polipéptido de la invención que se liga a al menos un resto (y en particular al menos una secuencia de aminoácidos) que aumenta la semivida del ISV o polipéptido de la invención. Los ejemplos de ISV o polipéptidos de la invención que comprenden tales restos o dominios variables únicos de inmunoglobulina que extienden la semivida estarán claros para el experto en la técnica basándose en la divulgación adicional en el presente documento; y, por ejemplo, incluyen sin limitación, polipéptidos en los que el polipéptido o uno o más dominios variables únicos de la inmunoglobulina de la invención se ligan adecuadamente a una o más proteínas séricas o fragmentos de las mismas (tales como albúmina sérica (humana) o fragmentos adecuados de la misma) o a una o más unidades de unión que pueden unirse a proteínas séricas (tales como, por ejemplo, anticuerpos de dominios, dominios variables únicos de inmunoglobulina que son adecuados para su uso como anticuerpo de dominios, anticuerpos de dominio único, dominios variables únicos de inmunoglobulina que son adecuados para su uso como un anticuerpo de dominio único, “dAb”, dominios variables únicos de inmunoglobulina que son adecuados para su uso como dAb, o Nanobodies que pueden unirse a proteínas séricas como la albúmina sérica (tal como la albúmina sérica humana), inmunoglobulinas séricas tales como IgG, o transferrina; se hace referencia a la descripción adicional y referencias mencionadas en el presente documento); ISV o polipéptidos en los que un ISV o polipéptido de la invención se liga a una porción de Fc (tal como un Fc humano) o una parte o un fragmento adecuado del mismo; o polipéptidos en los que el polipéptido o uno o más dominios variables únicos de inmunoglobulina de la invención se ligan adecuadamente a una o más proteínas o péptidos pequeños que pueden unirse a proteínas séricas, tales como, sin limitación, las proteínas y los péptidos descritos en los documentos WO 91/01743, WO 01/45746, WO 02/076489, WO 08/068280, WO 09/127691 y WO 11/095545.

Generalmente, los compuestos, constructos o polipéptidos de la invención con una semivida aumentada tienen preferiblemente una semivida que es al menos 1,5 veces, preferiblemente al menos 2 veces, tal como al menos 5 veces, por ejemplo al menos 10 veces o más más de 20 veces, mayor que la semivida del ISV o polipéptido correspondiente de la invención *per se*. Por ejemplo, los compuestos, constructos o polipéptidos de la invención con una semivida aumentada pueden tener una semivida, por ejemplo, en humanos que está aumentada en más de 1 hora, preferiblemente más de 2 horas, más preferiblemente más de 6 horas, tal como más de 12 horas, o incluso más de 24, 48 ó 72 horas, en comparación con el ISV o polipéptido correspondiente de la invención *per se*.

En un aspecto preferido, pero no limitativo de la invención, tales compuestos, constructos o polipéptidos de la invención tienen una semivida sérica, por ejemplo en humanos que está aumentada en más de 1 hora, preferiblemente más de 2 horas, más preferiblemente más de 6 horas, tal como más de 12 horas, o incluso más de 24, 48 ó 72 horas, en comparación con el ISV o polipéptido correspondiente de la invención *per se*.

En un aspecto adicional preferido, pero no limitativo de la invención, tales compuestos, constructos o polipéptidos de la invención muestran una semivida sérica en humanos de al menos aproximadamente 12 horas, preferiblemente al menos 24 horas, más preferiblemente al menos 48 horas, incluso más preferiblemente al menos 72 horas o más. Por ejemplo, los compuestos, constructos o polipéptidos de la invención pueden tener una semivida de al menos 5 días (tal como de aproximadamente 5 a 10 días), preferiblemente al menos 9 días (tal como de aproximadamente 9 a 14 días), más preferiblemente al menos aproximadamente 10 días (tal como de aproximadamente 10 a 15 días), o al menos aproximadamente 11 días (tal como de aproximadamente 11 a 16 días), más preferiblemente al menos aproximadamente 12 días (tal como de aproximadamente 12 a 18 días o más), o más de 14 días (tal como de aproximadamente 14 a 19 días).

En la presente invención, se demostró que la inclusión de una unidad de unión que selecciona como diana albúmina en el constructo como tal no tenía un impacto esencial sobre la potencia o eficacia obtenida. Aunque se observó una pérdida menor de eficacia/potencia en presencia de HSA, los polipéptidos multiespecíficos de unión a TCR de semivida extendida todavía eran potentes en la destrucción de células tumorales. Se ha demostrado que la administración de fármacos a base de albúmina es útil para lograr una mejor terapia contra el cáncer, debido en gran medida a su diana pasiva hacia el tumor a través de la permeabilidad y el efecto de retención mejorados y la mayor demanda de albúmina por las células tumorales como fuente de energía y aminoácidos. Sin embargo, la albúmina carece no sólo del mecanismo activo para superar la barrera de la membrana celular, sino también de la capacidad de penetración en tejidos tumorales (Qianqian Guo *et al.* 2013, Polym. Chem 4: 4584-4587).

En un aspecto particularmente preferido pero no limitativo de la invención, la invención proporciona un polipéptido de la invención que comprende un primer y un segundo dominios variables únicos de inmunoglobulina (ISV); y que comprende además uno o más (preferiblemente uno) dominio variable único de inmunoglobulina de unión a albúmina sérica tal como se describe en el presente documento, por ejemplo el dominio variable único de inmunoglobulina de unión a albúmina sérica denominado Alb8, Alb23, Alb129, Alb132, Alb11, Alb11 (S112K)-A, Alb82, Alb82-A, Alb82-AA, Alb82-AAA, Alb82-G, Alb82-GG, Alb82-GGG (tabla B-3).

Tabla B-3: Dominios variables únicos de inmunoglobulina para su uso en HLE de los ISV y polipéptidos de la invención

ISV	Secuencia	SEQ ID NO
Alb8	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS	400
Alb23	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS	401
Alb129	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT	402
	LYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTATYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA	
Alb132	EVQLVESGGGVVQPGGSLRLSCAASGFTFRSFGMSWVRQAPGKGPEWVSSISGSGSD TLYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRPEDTATYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA	403
Alb11	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS	404
Alb11 (S112K)-A	EVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVKVSSA	405
Alb82	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS	406
Alb82-A	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA	407
Alb82-AA	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSAA	408
Alb82-AAA	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSAAA	409
Alb82-G	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSG	410
Alb82-GG	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGG	411
Alb82-GGG	EVQLVESGGGVVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDT LYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTALYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGGG	412

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, que comprende además un resto de unión a proteínas séricas.

La presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho resto de unión a proteínas séricas se une a albúmina sérica.

La presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho resto de unión a proteínas séricas es un dominio variable único de inmunoglobulina que se une a albúmina sérica.

La presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ISV que se une a albúmina sérica consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente), en las que CDR1 es SFGMS (SEQ ID NO: 481), CDR2 es SISGSGSDTLYADSVKG (SEQ ID NO: 482), y en las que CDR3 es GGSLSR (SEQ ID NO: 475), determinándose CDR según la definición de Kabat; y/o en el que CDR1 es GFTFSSFGMS (SEQ ID NO: 472) o GFTFRSFGMS (SEQ ID NO: 473), CDR2 es SISGSGSDTL (SEQ ID NO: 474) y CDR3 es GGSLSR (SEQ ID NO: 475), determinándose CDR según Kontermann 2010.

La presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ISV que se une a albúmina sérica comprende Alb8, Alb23, Alb129, Alb132, Alb11, Alb11 (S112K)-A, Alb82, Alb82-A, Alb82-AA, Alb82-AAA, Alb82-G, Alb82-GG, Alb82-GGG (tabla-B3).

En los polipéptidos de la invención, los dos o más elementos estructurales, ISV o Nanobodies y opcionalmente uno o más polipéptidos, uno o más grupos, fármacos, agentes, residuos, restos o unidades de unión pueden ligarse directamente entre sí (tal como se describe, por ejemplo, en el documento WO 99/23221) y/o pueden ligarse entre sí a través de uno o más espaciadores o ligadores adecuados, o cualquier combinación de los mismos.

Los espaciadores o ligadores adecuados para su uso en polipéptidos multivalentes y multiespecíficos estarán claros para el experto, y generalmente pueden ser cualquier ligador o espaciador usado en la técnica para ligar secuencias de aminoácidos. Preferiblemente, dicho ligador o espaciador es adecuado para su uso en la construcción de proteínas o polipéptidos que están destinados para uso farmacéutico.

Algunos espaciadores particularmente preferidos incluyen los espaciadores y ligadores que se usan en la técnica para ligar fragmentos de anticuerpo o dominios de anticuerpo. Estos incluyen los ligadores mencionados en los antecedentes de la técnica generales citados anteriormente, así como por ejemplo, los ligadores que se usan en la técnica para construir Diabodies o fragmentos ScFv (a este respecto, sin embargo, debe observarse que, mientras que en Diabodies y en fragmentos ScFv, la secuencia ligadora usada debe tener una longitud, un grado de flexibilidad y otras propiedades que permitan que los dominios V_H y V_L pertinentes se acerquen para formar el sitio de unión a antígeno completo, no hay limitación particular en cuanto a la longitud o la flexibilidad del ligador usado en el polipéptido de la invención, puesto que cada ISV o Nanobody forma por sí mismo un sitio de unión a antígeno completo).

Por ejemplo, un ligador puede ser una secuencia de aminoácidos adecuada, y en particular secuencias de aminoácidos de entre 1 y 50 residuos de aminoácido, preferiblemente entre 1 y 30, tal como entre 1 y 10. Algunos ejemplos preferidos de tales secuencias de aminoácidos incluyen ligadores gly-ser, por ejemplo del tipo $(gly_xser_y)_z$, tal como (por ejemplo, $(gly_4ser)_3$ o $(gly_3ser_2)_3$, tal como se describe en el documento WO 99/42077 y los ligadores GS30, GS15, GS9 y GS7 descritos en las solicitudes de Ablynx mencionadas en el presente documento (véanse, por ejemplo, los documentos WO 06/040153 y WO 06/122825), así como regiones similares a bisagras, tal como las regiones bisagra de anticuerpo de cadena pesada que se producen de manera natural o secuencias similares (tal como se describe en el documento WO 94/04678). Se representan ligadores preferidos en la tabla B-4.

Tabla B-4: Ligadores

Ligador	Secuencia	SEQ ID NO
5GS	GGGGS	376
7GS	SGGSGGS	377
9GS	GGGGSGGGS	378
10GS	GGGGSGGGGS	379
15GS	GGGGSGGGGSGGGGS	380
18GS	GGGGSGGGGSGGGGGGGS	381
20GS	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	382
25GS	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	383
30GS	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	384
35GS	GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS	385
Poly-A	AAA	386

Algunos otros ligadores particularmente preferidos son la poli-alanina (tal como AAA), así como los ligadores GS30 (SEQ ID NO: 85 en el documento WO 06/122825) y GS9 (SEQ ID NO: 84 en el documento WO 06/122825).

Otros ligadores adecuados comprenden generalmente compuestos orgánicos o polímeros, en particular aquellos adecuados para su uso en proteínas para uso farmacéutico. Por ejemplo, se han usado restos de poli(etilenglicol) para ligar dominios de anticuerpo, véase, por ejemplo el documento WO 04/081026.

Está abarcado dentro del alcance de la invención que la longitud, el grado de flexibilidad y/u otras propiedades del/de los ligador(es) usado(s) (aunque no es crítico, tal como suele ser para los ligadores usados en fragmentos ScFv) pueden tener cierta influencia sobre las propiedades del polipéptido final de la invención, incluyendo pero sin limitarse a la afinidad, especificidad o avidez por el TCR, o por uno o más de los otros antígenos. Basándose en la divulgación en el presente documento, el experto será capaz de determinar el o los ligadores óptimos para su uso en un polipéptido específico de la invención, opcionalmente después de algunos experimentos de rutina limitados.

Por ejemplo, en los polipéptidos multivalentes de la invención que comprenden elementos estructurales, ISV o Nanobodies dirigidos contra una primera y una segunda dianas, la longitud y la flexibilidad del ligador son preferiblemente tales que permiten que cada elemento estructural, ISV o Nanobody de la invención presente en el polipéptido se una a su diana afín, por ejemplo el determinante antigénico en cada una de las dianas. De nuevo, basándose en la divulgación en el presente documento, el experto será capaz de determinar el o los ligadores

óptimos para su uso en un polipéptido específico de la invención, opcionalmente después de algunos experimentos de rutina limitados.

También está dentro del alcance de la invención que el/los ligador(es) usado(s) confiere(n) una o más propiedades o funcionalidades favorables a los polipéptidos de la invención, y/o proporciona(n) uno o más sitios para la formación de derivados y/o para la unión de grupos funcionales (por ejemplo, tal como se describe en el presente documento para los derivados de los ISV, Nanobodies o polipéptidos de la invención). Por ejemplo, los ligadores que contienen uno o más residuos de aminoácido cargados pueden proporcionar propiedades hidrófilas mejoradas, mientras que los ligadores que forman o contienen pequeños epítopos o etiquetas pueden usarse con propósitos de detección, identificación y/o purificación. De nuevo, basándose en la divulgación en el presente documento, el experto será capaz de determinar los ligadores óptimos para su uso en un polipéptido específico de la invención, opcionalmente después de algunos experimentos de rutina limitados.

Finalmente, cuando se usan dos o más ligadores en los polipéptidos de la invención, estos ligadores pueden ser iguales o diferentes. De nuevo, basándose en la divulgación en el presente documento, el experto será capaz de determinar los ligadores óptimos para su uso en un polipéptido específico de la invención, opcionalmente después de algunos experimentos de rutina limitados.

Normalmente, para facilitar la expresión y la producción, un polipéptido de la invención será un polipéptido lineal. Sin embargo, la invención en su sentido más amplio no está limitada a los mismos. Por ejemplo, cuando un polipéptido de la invención comprende tres o más elementos estructurales, ISV o Nanobodies, es posible ligarlos mediante el uso de un ligador con tres o más “brazos”, ligándose cada “brazo” a un elemento estructural, ISV o Nanobody, para proporcionar un constructo “en forma de estrella”. También es posible, aunque generalmente menos preferido, usar constructos circulares.

Por consiguiente, la presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho primer ISV y dicho segundo ISV y posiblemente dicho tercer ISV y/o dicho ISV que se une a albúmina sérica se ligan directamente entre sí o se unen a través de un ligador.

La presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho ligador se elige del grupo que consiste en ligadores de 5GS, 7GS, 9GS, 10GS, 15GS, 18GS, 20GS, 25GS, 30GS y 35GS.

La presente invención se refiere a un polipéptido tal como se describe en el presente documento, en el que dicho resto de unión a proteínas séricas es un polipéptido no basado en anticuerpos (por ejemplo, PEG).

La invención también se refiere a métodos para preparar los ISV, polipéptidos y constructos descritos en el presente documento. Los ISV, polipéptidos y constructos de la invención pueden prepararse de una manera conocida *per se*, tal como estará claro para el experto a partir de la descripción adicional en el presente documento. Por ejemplo, los ISV, polipéptidos y constructos de la invención pueden prepararse de cualquier manera conocida *per se* para la preparación de anticuerpos y en particular para la preparación de fragmentos de anticuerpo (incluyendo, pero sin limitarse a, anticuerpos de dominio (único) y fragmentos ScFv). Algunos métodos preferidos, pero no limitativos, para preparar los polipéptidos y constructos incluyen los métodos y las técnicas descritos en el presente documento.

El método para producir un ISV, polipéptido o constructo de proteína de la invención puede comprender las siguientes etapas:

- la expresión, en una célula huésped o un organismo huésped adecuado (también denominado en el presente documento “huésped de la invención”) o en otro sistema de expresión adecuado de un ácido nucleico que codifica para dicho ISV, polipéptido o constructo de proteína de la invención,

  opcionalmente seguido de:

- aislar y/o purificar el ISV, polipéptido o constructo de proteína de la invención así obtenido.

En particular, dicho método puede comprender las etapas de:

- cultivar y/o mantener un huésped de la invención en condiciones tales que dicho huésped de la invención exprese y/o produzca al menos un ISV, polipéptido o constructo de proteína de la invención;

  opcionalmente seguido de:

- aislar y/o purificar el ISV, polipéptido o constructo de proteína de la invención así obtenido.

Por consiguiente, la presente invención también se refiere a un ácido nucleico o una secuencia de nucleótidos que

codifica para un ISV, polipéptido o constructo de proteína de la invención (también denominado "*ácido nucleico de la invención"* o "*secuencia de nucleótidos de la invención*"). Un ácido nucleico de la invención puede estar en forma de ADN o ARN monocatenario o bicatenario, y está preferiblemente en forma de ADN bicatenario. Por ejemplo, las secuencias de nucleótidos de la invención pueden 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 huésped o el organismo huésped pretendido).

Según una realización de la invención, el ácido nucleico de la invención está esencialmente aislado de, tal como se define en el presente documento. El ácido nucleico de la invención también puede estar en forma de, estar presente y/o formar parte de un vector, tal como, por ejemplo un plásmido, cósmido o YAC, que de nuevo puede estar en forma esencialmente aislada.

Los ácidos nucleicos de la invención pueden prepararse u obtenerse de una manera conocida *per se*, basándose en la información sobre los polipéptidos o constructos de proteínas de la invención facilitada en el presente documento, y/o pueden aislarse de una fuente natural adecuada. Además, tal como estará claro para el experto, para preparar un ácido nucleico de la invención, también varias secuencias de nucleótidos, tales como al menos una secuencia de nucleótidos que codifica para un dominio variable único de inmunoglobulina de la invención y, por ejemplo, ácidos nucleicos que codifican para uno o más los ligadores pueden ligarse de manera adecuada.

Las técnicas para generar los ácidos nucleicos de la invención estarán claras para el experto y pueden incluir, por ejemplo, pero sin limitación, síntesis de ADN automatizada; mutagénesis dirigida al sitio; combinación de dos o más secuencias que se producen de manera natural y/o sintéticas (o dos o más partes de las mismas), introducción de mutaciones que conducen a la expresión de un producto de expresión truncado; introducción de uno o más sitios de restricción (por ejemplo, para crear casetes y/o regiones que pueden digerirse y/o ligarse más fácilmente usando enzimas de restricción adecuadas), y/o la introducción de mutaciones por medio de una reacción de PCR usando uno o más cebadores "no coincidentes". Estas y otras técnicas estarán claras para el experto, y de nuevo se hace referencia a los manuales convencionales, tales como Sambrook *et al*. y Ausubel *et al*., mencionados en el presente documento, así como los ejemplos a continuación.

El ácido nucleico de la invención también puede estar en forma de, estar presente y/o formar parte de un constructo genético, tal como estará claro para el experto en la técnica. Tales constructos genéticos comprenden generalmente al menos un ácido nucleico de la invención que se liga opcionalmente a uno o más elementos de constructos genéticos conocidos *per se*, tales como, por ejemplo uno o más elementos reguladores adecuados (tales como un promotor(es), potenciador(es), terminador(es) adecuado(s), etc.) y los elementos adicionales de los constructos genéticos a los que se hace referencia en el presente documento. Tales constructos genéticos que comprenden al menos un ácido nucleico de la invención también se denominarán en el presente documento "*constructos genéticos de la invención".*

Los constructos genéticos de la invención pueden ser ADN o ARN, y son preferiblemente ADN bicatenario. Los constructos genéticos de la invención también pueden estar en una forma adecuada para la transformación de la célula huésped o el organismo huésped pretendido, en una forma adecuada para la integración en el ADN genómico de la célula huésped pretendida o en una forma adecuada para la replicación, el mantenimiento y/o la herencia independientes en el organismo huésped pretendido. Por ejemplo, los constructos genéticos de la invención pueden estar en forma de un vector, tal como, por ejemplo un plásmido, cósmido, YAC, un vector viral o transposón. En particular, el vector puede ser un vector de expresión, es decir, un vector que puede proporcionar expresión *in vitro* y/o *in vivo* (por ejemplo, en una célula huésped, un organismo huésped y/o sistema de expresión adecuado).

En una realización preferida pero no limitativa, un constructo genético de la invención comprende

a) al menos un ácido nucleico de la invención; conectado operativamente a

b) uno o más elementos reguladores, tales como un promotor y opcionalmente un terminador adecuado;

y opcionalmente también

c) uno o más elementos adicionales de constructos genéticos conocidos *per se*;

en el que los términos "elemento regulador", "promotor", "terminador" y "conectado operativamente" tienen su significado habitual en la técnica (tal como se describe adicionalmente en el presente documento); y en el que dichos "elementos adicionales" presentes en los constructos genéticos pueden ser, por ejemplo, secuencias 3'- o 5'-UTR, secuencias líderes, marcadores de selección, marcadores de expresión/genes indicadores y/o elementos que pueden facilitar o aumentar (la eficiencia de) transformación o integración. Estos y otros elementos adecuados para tales constructos genéticos estarán claros para el experto y, por ejemplo, pueden depender del tipo de constructo usado; la célula huésped o el organismo huésped pretendido; la manera en que han de expresarse las secuencias de nucleótidos de la invención de interés (por ejemplo, mediante expresión constitutiva, transitoria o inducible); y/o la técnica de transformación que ha de usarse. Por ejemplo, las secuencias reguladoras, los promotores y los

terminadores conocidos *per se* para la expresión y la producción de anticuerpos y fragmentos de anticuerpo (incluyendo, pero sin limitarse a, anticuerpos de dominio (único) y fragmentos ScFv) pueden usarse de una manera esencialmente análoga.

Preferiblemente, en los constructos genéticos de la invención, dicho al menos un ácido nucleico de la invención y dichos elementos reguladores, y opcionalmente dicho uno o más elementos adicionales, se "ligan operativamente" entre sí, por lo que generalmente se entiende que están en una relación funcional entre sí. Por ejemplo, un promotor se considera "ligado operativamente" a una secuencia codificante si dicho promotor es capaz de iniciar o controlar/regular de otro modo la transcripción y/o la expresión de una secuencia codificante (en la que dicha secuencia codificante debe entenderse como "bajo el control de "dicho promotor). Generalmente, cuando dos secuencias de nucleótidos se ligan operativamente, estarán en la misma orientación y habitualmente también en el mismo marco de lectura. Habitualmente, también serán esencialmente contiguas, aunque esto también puede no ser necesario.

Los ácidos nucleicos de la invención y/o los constructos genéticos de la invención pueden usarse para transformar una célula huésped o un organismo huésped, es decir, para la expresión y/o producción del constructo de proteína o polipéptido de la invención. El huésped es preferiblemente un huésped no humano. Los huéspedes o las células huésped adecuados estarán claros para el experto y pueden ser, por ejemplo, cualquier célula o línea celular fúngica, procariota o eucariota adecuada o cualquier organismo fúngico, procariota o eucariota adecuado, por ejemplo:

- una cepa bacteriana, incluyendo pero sin limitarse a cepas gram-negativas tales como cepas de *Escherichia coli;* de *Proteus,* por ejemplo de *Proteus mirabilis;* de *Pseudomonas*, por ejemplo de *Pseudomonas fluorescens;* y cepas gram-positivas tales como cepas de *Bacillus*, por ejemplo de *Bacillus subtilis* o de *Bacillus brevis;* de *Streptomyces*, por ejemplo de *Streptomyces lividans;* de *Staphylococcus*, por ejemplo de *Staphylococcus carnosus;* y de *Lactococcus*, por ejemplo de *Lactococcus lactis;*

- una célula fúngica, incluyendo pero sin limitarse a células de especies de *Trichoderma*, por ejemplo de *Trichoderma reesei;* de *Neurospora*, por ejemplo de *Neurospora crassa;* de *Sordaria*, por ejemplo de *Sordaria macrospora;* de *Aspergillus,* por ejemplo de *Aspergillus niger* o de *Aspergillus sojae;* o de otros hongos filamentosos;

- una célula de levadura, incluyendo pero sin limitarse a células de especies de *Saccharomyces*, por ejemplo de *Saccharomyces cerevisiae;* de *Schizosaccharomyces,* por ejemplo de *Schizosaccharomyces pombe;* de *Pichia*, por ejemplo de *Pichia pastoris* o de *Pichia methanolica;* de *Hansenula,* por ejemplo de *Hansenula polymorpha;* de *Kluyveromyces,* por ejemplo de *Kluyveromyces lactis;* de *Arxula*, por ejemplo de *Arxula adeninivorans;* de *Yarrowia*, por ejemplo de *Yarrowia lipolytica;*

- una célula o línea celular de anfibios, tal como ovocitos de *Xenopus;*

- una célula o línea celular derivada de insectos, tal como células/líneas celulares derivadas de lepidópteros, incluyendo pero sin limitarse a células SF9 y Sf21 de *Spodoptera* o células/líneas celulares derivadas de *Drosophila* tales como células de Schneider y Kc;

- una célula de planta o vegetal, por ejemplo en plantas de tabaco; y/o

- una célula o línea celular de mamífero, por ejemplo una célula o línea celular derivada de un humano, una célula o una línea celular de mamíferos incluyendo, pero sin limitarse a, células CHO, células BHK (por ejemplo, células BHK-21) y células o líneas celulares humanas tales como células HeLa, COS (por ejemplo, COS-7) y PER.C6;

así como todos los demás huéspedes o células huésped conocidos *per se* para la expresión y producción de anticuerpos y fragmentos de anticuerpo (incluyendo, pero sin limitarse a, anticuerpos de dominio (único) y fragmentos ScFv), que estarán claros para el experto. También se hace referencia a los antecedentes de la técnica generales citados anteriormente, así como, por ejemplo, a los documentos WO 94/29457; WO 96/34103; WO 99/42077; Frenken *et al.* 1998 (Res. Immunol. 149: 589-99); Riechmann y Muyldermans 1999 (J. Immunol. Met. 231: 25-38); van der Linden 2000 (J. Biotechnol. 80: 261-70); Joosten *et al.* 2003 (Microb. Cell Fact. 2:1); Joosten *et al.* 2005 (Appl. Microbiol. Biotechnol. 66: 384-92); y las referencias adicionales citadas en el presente documento.

Para la expresión de los ISV, polipéptidos o constructos en una célula, también pueden expresarse como los denominados "Intrabodies", tal como se describe en los documentos WO 94/02610, WO 95/22618 y US 7004940; WO 03/014960; en Cattaneo y Biocca 1997 (Intracellular Antibodies: Development and Applications. Landes and Springer-Verlag); y en Kontermann 2004 (Methods 34:163-170).

Según una realización preferida, pero no limitativa de la invención, el ISV, polipéptido o constructo de proteína de la invención se produce en una célula bacteriana, en particular una célula bacteriana adecuada para la producción farmacéutica a gran escala, tal como células de las cepas mencionadas anteriormente.

Según otra realización preferida, pero no limitativa de la invención, el ISV, polipéptido o constructo de proteína de la invención se produce en una célula de levadura, en particular una célula de levadura adecuada para la producción farmacéutica a gran escala, tal como células de las especies mencionadas anteriormente.

Según aún otra realización preferida, pero no limitativa de la invención, el ISV, polipéptido o constructo de la invención se produce en una célula de mamífero, en particular en una célula humana o en una célula de una línea celular humana, y más en particular en una célula humana o en una célula de una línea celular humana que es adecuada para la producción farmacéutica a gran escala, tal como las líneas celulares mencionadas anteriormente.

Las técnicas adecuadas para transformar un huésped o célula huésped de la invención estarán claras para el experto y pueden depender de la célula huésped/organismo huésped pretendido y el constructo genético que va a usarse. Se hace referencia de nuevo a los manuales y las solicitudes de patentes mencionados anteriormente.

Después de la transformación, puede realizarse una etapa para detectar y seleccionar aquellas células huésped u organismos huésped que se han transformado satisfactoriamente con la secuencia de nucleótidos/constructo genético de la invención. Esta puede ser, por ejemplo, una etapa de selección basada en un marcador seleccionable presente en el constructo genético de la invención o una etapa que implica la detección del polipéptido de la invención, por ejemplo usando anticuerpos específicos.

La célula huésped transformada (que puede estar en forma de una línea celular estable) u organismos huésped (que pueden estar en forma de una línea o cepa mutante estable) forman aspectos adicionales de la presente invención.

Preferiblemente, estas células huésped u organismos huésped son tales que expresan, o son (al menos) capaces de expresar (por ejemplo, en condiciones adecuadas), un ISV, polipéptido o constructo de proteína de la invención (y en el caso de un organismo huésped: en al menos una célula, parte, un tejido u órgano del mismo). La invención también incluye generaciones, progenie y/o descendencia adicionales de la célula huésped o el organismo huésped de la invención, por ejemplo, obtenidas por división celular o por reproducción sexual o asexual.

Por consiguiente, en un aspecto adicional, la invención se refiere a un huésped o una célula huésped que expresa (o que en circunstancias adecuadas es capaz de expresar) un ISV, polipéptido o constructo de proteína de la invención; y/o que contiene un ácido nucleico que codifica para el mismo. Algunos ejemplos preferidos pero no limitativos de tales huéspedes o células huésped pueden ser tal como se describen generalmente en los documentos WO 04/041867, WO 04/041865 o WO 09/068627. Por ejemplo, los ISV, los polipéptidos y los constructos de proteína de la invención pueden expresarse, producirse o fabricarse con ventaja en una cepa de levadura, tal como una cepa de *Pichia pastoris.* También se hace referencia a los documentos WO 04/25591, WO 10/125187, WO 11/003622 y WO 12/056000 que también describe la expresión/producción en *Pichia* y otros huéspedes/células huésped de polipéptidos y dominios variables únicos de inmunoglobulina que comprenden los mismos.

Para producir/obtener la expresión de los ISV, polipéptidos o constructos de proteína de la invención, la célula huésped transformada o el organismo huésped transformado generalmente se puede conservar, mantener y/o cultivar en condiciones tales que el ISV, polipéptido o constructo de proteína (deseado) de la invención se expresa/produce. Las condiciones adecuadas estarán claras para el experto y habitualmente dependerán de la célula huésped/organismo huésped usado, así como de los elementos reguladores que controlan la expresión de la secuencia de nucleótidos (relevante) de la invención. De nuevo, se hace referencia a los manuales y las solicitudes de patentes mencionados anteriormente en los párrafos sobre los constructos genéticos de la invención.

En general, las condiciones adecuadas pueden incluir el uso de un medio adecuado, la presencia de una fuente adecuada de alimentos y/o nutrientes adecuados, el uso de una temperatura adecuada y, opcionalmente, la presencia de un factor o compuesto de inducción adecuado (por ejemplo, cuando las secuencias de nucleótidos de la invención están bajo el control de un promotor inducible); todo lo cual puede selecionarlo el experto. De nuevo, em tanles condiciones, los ISV, polipéptidos o constructos de proteína de la invención pueden expresarse de manera constitutiva, de manera transitoria, o sólo cuando se inducen adecuadamente.

También estará claro para el experto que el ISV, polipéptido o constructo de proteína de la invención puede generarse (en primer lugar) en una forma inmadura (tal como se mencionó anteriormente), que luego puede someterse a modificación postraduccional, dependiendo de célula huésped/organismo huésped usado. Además, el ISV, polipéptido o constructo de proteína de la invención puede glicosilarse, de nuevo dependiendo de la célula huésped/organismo huésped usado.

El ISV, polipéptido o constructo de proteína de la invención puede aislarse luego de la célula huésped/organismo huésped y/o del medio en el que se cultivó dicha célula huésped o dicho organismo huésped, usando técnicas de

aislamiento y/o purificación de proteínas conocidas *per se*, tales como técnicas de electroforesis y/o cromatografía (preparativa), técnicas de precipitación diferencial, técnicas de afinidad (por ejemplo, usando una secuencia de aminoácidos escindible específica fusionada con el polipéptido o constructo de la invención) y/o técnicas inmunológicas preparativas (es decir, usando anticuerpos contra la secuencia de aminoácidos que va a aislarse).

Los constructos de la invención pueden prepararse generalmente mediante un método que comprende al menos la etapa de ligar adecuadamente los ISV o polipéptidos de la invención al uno o más grupos, residuos, restos o unidades de unión adicionales, opcionalmente a través de uno o más ligadores adecuados, para proporcionar los constructos de la invención. Los ISV, polipéptidos y constructos de la invención pueden modificarse adicionalmente, y en particular mediante modificación química y/o biológica (por ejemplo, enzimática), de uno o más de los residuos de aminoácido que forman los polipéptidos o constructos de la invención, para obtener derivados de los polipéptidos o constructos de la invención.

La invención también se refiere a una composición farmacéutica que comprende el ISV, polipéptido, compuesto o constructo de la invención.

En los métodos anteriores, las secuencias de aminoácidos, los ISV, Nanobodies, polipéptidos, compuestos o constructos de la invención y/o las composiciones que comprenden los mismos pueden administrarse de cualquier manera adecuada, dependiendo de la formulación o composición farmacéutica específica que vaya a usarse. Por tanto, las secuencias de aminoácidos, los ISV, Nanobodies, polipéptidos, compuestos o constructos de la invención y/o las composiciones que comprenden los mismos pueden administrarse, por ejemplo, por vía oral, por vía intraperitoneal (por ejemplo, por vía intravenosa, por vía subcutánea, por vía intramuscular o por cualquier otra vía de administración que sortee el tubo digestivo), por vía intranasal, por vía transdérmica, de manera tópica, por medio de un supositorio, por inhalación, dependiendo de nuevo de la formulación o composición farmacéutica específica que vaya a usarse. El médico clínico podrá seleccionar una vía de administración adecuada y una formulación o composición farmacéutica adecuada para usarse en tal administración, dependiendo de la enfermedad o el trastorno que vaya a prevenirse o tratarse y otros factores que conoce bien el médico clínico.

Tal como se usa en el presente documento, el término “agente terapéutico” se refiere a cualquier agente que puede usarse en el tratamiento y/o manejo de un trastorno de células hiperproliferativas, por ejemplo, cáncer, o uno o más síntomas del mismo. En determinadas realizaciones, el término “agente terapéutico” se refiere a un polipéptido multiespecífico de la invención. Preferiblemente, un agente terapéutico es un agente que se sabe que es útil para, o se ha usado o está usándose actualmente para el tratamiento, la prevención y/o el manejo de un trastorno de células hiperproliferativas, por ejemplo, cáncer, o uno o más síntomas del mismo.

Tal como se usa en el presente documento, una “cantidad terapéuticamente eficaz” en el contexto del cáncer se refiere a la cantidad de una terapia sola, o en combinación con otras terapias, que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento y/o manejo de cánceres. En un aspecto, una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a la cantidad de una terapia suficiente para destruir, modificar, controlar o eliminar tejido canceroso primario, regional o metastásico. En otro aspecto, una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a la cantidad de una terapia suficiente para reducir los síntomas de un cáncer. En otro aspecto, una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a la cantidad de una terapia suficiente para retardar o minimizar la diseminación del cáncer. En una realización específica, una cantidad terapéuticamente eficaz de una terapia es una cantidad de una terapia suficiente para inhibir el crecimiento o la proliferación de células cancerosas, destruir células cancerosas existentes (por ejemplo, provocar la regresión del cáncer) y/o prevenir la diseminación de células cancerosas a otros tejidos o áreas (por ejemplo, prevenir la metástasis). En otra realización específica, una cantidad terapéuticamente eficaz de una terapia es la cantidad de una terapia suficiente para inhibir el crecimiento de un tumor en al menos el 5%, preferiblemente al menos el 10%, al menos el 15%, al menos el 20%, al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 35%, al menos el 40%, al menos el 45%, al menos el 50%, al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95% o al menos el 100% tal como se mide mediante un método convencional conocido en la técnica. Usado en relación con una cantidad de un polipéptido multiespecífico de la invención, el término puede abarcar una cantidad que mejora la terapia global, reduce o evita efectos no deseados, o aumenta la eficacia terapéutica o las sinergias con otra terapia. En una realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de una terapia reduce o evita los efectos no deseados, o aumenta la eficacia terapéutica o las sinergias con otra terapia en al menos el 5%, preferiblemente al menos el 10%, al menos el 15%, al menos el 20%, al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 35%, al menos el 40%, al menos el 45%, al menos el 50%, al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95% o al menos el 100% en relación con un control (por ejemplo, un control negativo tal como solución salina tamponada con fosfato) en un ensayo conocido en la técnica o descrito en el presente documento.

Tal como se usa en el presente documento, una “cantidad terapéuticamente eficaz” en el contexto de un trastorno de células hiperproliferativas no cancerosas se refiere a la cantidad de una terapia sola, o en combinación con otras terapias, que proporciona un beneficio terapéutico en el tratamiento y/o manejo de dicho trastorno. En un aspecto, una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a la cantidad de una terapia suficiente para destruir, modificar, controlar o eliminar células afectadas por un trastorno de células hiperproliferativas no cancerosas. En otro aspecto,

una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a la cantidad de una terapia suficiente para reducir los síntomas de un trastorno de células hiperproliferativas no cancerosas. En otro aspecto, una cantidad terapéuticamente eficaz se refiere a la cantidad de una terapia suficiente para retardar o minimizar la diseminación del trastorno de células hiperproliferativas no cancerosas. En una realización específica, una cantidad terapéuticamente eficaz de una terapia es una cantidad de una terapia suficiente para inhibir el crecimiento o la proliferación del trastorno de células hiperproliferativas no cancerosas, destruir las células hiperproliferativas no cancerosas existentes (por ejemplo, provocar la regresión del trastorno). En otra realización específica, una cantidad terapéuticamente eficaz de una terapia es la cantidad de una terapia suficiente para inhibir el crecimiento de las células hiperproliferativas no cancerosas en al menos el 5%, preferiblemente al menos el 10%, al menos el 15%, al menos el 20%, al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 35%, al menos el 40%, al menos el 45%, al menos el 50%, al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95% o al menos el 100% tal como se mide mediante un método convencional conocido en la técnica. Usado en relación con una cantidad de un polipéptido multiespecífico de la invención, el término puede abarcar una cantidad que mejora la terapia global, reduce o evita los efectos no deseados, o aumenta la eficacia terapéutica o las sinergias con otra terapia. En una realización, una cantidad terapéuticamente eficaz de una terapia reduce o evita los efectos no deseados, o aumenta la eficacia terapéutica o las sinergias con otra terapia en al menos el 5%, preferiblemente al menos el 10%, al menos el 15%, al menos el 20%, al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 35%, al menos el 40%, al menos el 45%, al menos el 50%, al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95% o al menos el 100% en relación con un control (por ejemplo, un control negativo tal como solución salina tamponada con fosfato) en un ensayo conocido en la técnica.

Tal como se usa en el presente documento, el término “terapia” se refiere a cualquier protocolo, método y/o agente que puede usarse en el tratamiento, la prevención y/o el manejo de un trastorno de células hiperproliferativas, por ejemplo, cáncer. En determinadas realizaciones, los términos “terapias” y “terapia” se refieren a una terapia biológica, terapia de apoyo y/u otras terapias útiles en el tratamiento, la prevención y/o el manejo de un trastorno de células hiperproliferativas, por ejemplo, cáncer, o uno o más síntomas del mismo que conoce un experto en la técnica, tal como personal médico.

Tal como se usa en el presente documento, los términos “tratar”, “tratamiento” y “que trata” en el contexto de administrar una(s) terapia(s) a un sujeto se refieren a la reducción o mejora de la progresión, gravedad y/o duración de un trastorno asociado con un trastorno de células hiperproliferativas, por ejemplo, cáncer, y/o la mejora de uno o más síntomas del mismo como resultado de la administración de una o más terapias (incluyendo, pero sin limitarse a, la administración de uno o más agentes profilácticos o terapéuticos) En realizaciones específicas, los términos “tratar”, “tratamiento” y “que trata” en el contexto de administrar una(s) terapia(s) a un sujeto se refieren a la reducción o mejora de la progresión, gravedad y/o duración de un trastorno de células hiperproliferativas, por ejemplo, cáncer, se refiere a una reducción en las células cancerosas en al menos el 5%, preferiblemente al menos el 10%, al menos el 15%, al menos el 20%, al menos el 25%, al menos el 30%, al menos el 35%, al menos el 40%, al menos el 45%, al menos el 50%, al menos el 55%, al menos el 60%, al menos el 65%, al menos el 70%, al menos el 75%, al menos el 80%, al menos el 85%, al menos el 90%, al menos el 95% o al menos el 100% en relación con un control (por ejemplo, un control negativo tal como solución salina tamponada con fosfato). En otras realizaciones, los términos “tratar”, “tratamiento” y “que trata” en el contexto de administrar una(s) terapia(s) a un sujeto se refieren a la reducción o mejora de la progresión, gravedad y/o duración de un trastorno de células hiperproliferativas, por ejemplo, cáncer, se refiere a la ausencia de cambio en el número de células cancerosas, una reducción del tiempo de hospitalización, una reducción de la mortalidad o un aumento del tiempo de supervivencia del sujeto con cáncer.

Las secuencias de aminoácidos, los ISV, Nanobodies, polipéptidos, compuestos y/o constructos de la invención y/o las composiciones que comprenden los mismos se administran según un régimen de tratamiento que sea adecuado para prevenir y/o tratar el trastorno de células hiperproliferativas, por ejemplo, cáncer, que va a prevenirse o tratarse. El médico clínico generalmente será capaz de determinar un régimen de tratamiento adecuado, dependiendo de factores tales como el estadio del trastorno de células hiperproliferativas, por ejemplo, cáncer, que va a tratarse, la gravedad del trastorno de células hiperproliferativas, por ejemplo, cáncer, que va a tratarse y/o la gravedad de sus síntomas, la secuencia de aminoácidos, el ISV, Nanobody, polipéptido, compuesto y/o constructo de la invención específico que va a usarse, la vía de administración específica y la formulación o composición farmacéutica que va a usarse, la edad, el sexo, peso, la dieta, el estado general del paciente, y factores similares que conoce bien el médico clínico.

Generalmente, el régimen de tratamiento comprenderá la administración de una o más secuencias de aminoácidos, ISV, Nanobodies, polipéptidos, compuestos y/o constructos de la invención, o de una o más composiciones que comprenden los mismos, en una o más dosis o cantidades farmacéuticamente eficaces. El médico clínico puede determinar las dosis o la(s) cantidad(es) específica(s) que han de administrarse, basándose de nuevo en los factores citados anteriormente.

En general, para la prevención y/o el tratamiento de un trastorno de células hiperproliferativas, por ejemplo, cáncer, mencionado en el presente documento y dependiendo del tipo de trastorno de células hiperproliferativas, por ejemplo, cáncer, y el estado de la enfermedad que va a tratarse, la potencia de la secuencia de aminoácidos, el ISV,

Nanobody, polipéptido, compuesto o constructo de la invención específico que va a usarse, la vía de administración específica y la formulación o composición farmacéutica específica usada, las secuencias de aminoácidos, los ISV, Nanobodies, polipéptidos, compuestos o constructos de la invención se administrarán generalmente en una cantidad de entre 1 gramo y 0,01 miligramos por kg de peso corporal al día, preferiblemente entre 0,1 gramos y 0,01 miligramos por kg de peso corporal al día, tal como aproximadamente 0,1, 1, 10, 100 ó 1000 miligramos por kg de peso corporal al día, por ejemplo desde 0,1 mg por kg hasta 25 mg por kg de peso corporal del sujeto; ya sea de manera continua (por ejemplo, por infusión), tal como una dosis diaria única o como dosis divididas múltiples durante el día. El médico clínico generalmente será capaz de determinar una dosis diaria adecuada, dependiendo de los factores mencionados en el presente documento. También estará claro que en casos específicos, el médico clínico puede optar por desviarse de estas cantidades, por ejemplo, basándose en los factores citados anteriormente y su criterio experto. En general, puede obtenerse cierta orientación sobre las cantidades que han de administrarse a partir de las cantidades administradas habitualmente para anticuerpos o fragmentos de anticuerpo convencionales comparables contra la mismo diana administrados esencialmente por la misma vía, teniendo en cuenta, sin embargo, las diferencias en afinidad/avidez, eficacia, biodistribución, semivida y factores similares que conoce bien el experto.

Habitualmente, en el método anterior, se usará una única secuencia de aminoácidos, ISV, Nanobody, polipéptido, compuesto o constructo de la invención. Sin embargo, está dentro del alcance de la invención usar dos o más secuencias de aminoácidos, ISV, Nanobodies, compuestos de polipéptidos y/o constructos de la invención en combinación.

Los ISV, Nanobodies, secuencias de aminoácidos, polipéptidos, compuestos y/o constructos de la invención también pueden usarse en combinación con uno o más compuestos o principios farmacéuticamente activos adicionales, es decir, tal como un régimen de tratamiento combinado, que puede o no conducir a un efecto sinérgico. De nuevo, el médico clínico podrá seleccionar dichos compuestos o principios adicionales, así como un régimen de tratamiento combinado adecuado, basándose en los factores citados anteriormente y su criterio experto.

En particular, las secuencias de aminoácidos, los ISV, Nanobodies, polipéptidos, compuestos y/o constructos de la invención pueden usarse en combinación con otros compuestos o principios farmacéuticamente activos que son o pueden usarse para la prevención y/o el tratamiento del trastorno de células hiperproliferativas, por ejemplo, cáncer, enfermedad y/o trastorno citados en el presente documento, como resultado de lo cual puede obtenerse o no un efecto sinérgico. Los ejemplos de tales compuestos y principios, así como las vías, los métodos y las formulaciones o composiciones farmacéuticas para administrarlos estarán claros para el médico clínico.

Cuando van a usarse dos o más sustancias o principios como parte de un régimen de tratamiento combinado, pueden administrarsese por la misma vía de administración o por vías de administración diferentes, esencialmente al mismo tiempo o en momentos diferentes (por ejemplo, esencialmente de manera simultánea, consecutiva o según un régimen alterno). Cuando las sustancias o los principios van a administrarse simultáneamente por la misma vía de administración, pueden administrarse como formulaciones o composiciones farmacéuticas diferentes o como parte de una formulación o composición farmacéutica combinada, tal como estará claro para el experto en la técnica.

En un aspecto, la divulgación proporciona métodos para la administración de dominios variables únicos de inmunoglobulina y constructos de polipéptido de los mismos que comprenden uno o más dominios variables únicos, polipéptidos, compuestos y/o constructos de inmunoglobulina. En algunas realizaciones, el dominio variable único, polipéptido, compuesto y/o constructo de inmunoglobulina se administra como una composición farmacéutica. La composición farmacéutica, además de los dominios variables únicos de inmunoglobulina y los constructos de polipéptido de los mismos, incluye un portador farmacéuticamente aceptable.

Tal como se describe con detalle, las composiciones farmacéuticas de la divulgación pueden formularse especialmente para la administración en forma sólida o líquida, incluidas las adaptadas para lo siguiente: administración oral, por ejemplo, gotas (disoluciones o suspensiones acuosas o no acuosas), comprimidos, por ejemplo, aquellos que tienen como objetivo la absorción bucal, sublingual y sistémica, bolos, polvos, gránulos, pastas para la aplicación en la lengua; administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección subcutánea, intramuscular, intravenosa o epidural tal como, por ejemplo, una disolución o suspensión estéril, o formulación de liberación sostenida; aplicación tópica, por ejemplo, tal como una crema, pomada o una pulverización o un parche de liberación controlada aplicados a la piel, los pulmones o la cavidad oral; por vía intravaginal o por vía intrarrectal, por ejemplo, tal como un óvulo vaginal, una crema o espuma; por vía sublingual; por vía ocular; por vía transdérmica o por vía nasal, pulmonar y a otras superficies mucosas.

La expresión “farmacéuticamente aceptable” se emplea en el presente documento para referirse a aquellos compuestos, materiales, composiciones y/o formas de dosificación que, dentro del alcance del criterio médico razonable, son adecuados para su uso en contacto con los tejidos de seres humanos y animales sin excesiva toxicidad, irritación, respuesta alérgica u otro problema o complicación, acorde con una relación beneficio/riesgo razonable.

La expresión “portador farmacéuticamente aceptable”, tal como se usa en el presente documento, significa un

material, una composición o un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un material de relleno, diluyente, excipiente o material de encapsulación de disolvente líquido o sólido, implicado en portar o transportar el compuesto objeto desde un órgano, o parte del cuerpo, hasta otro órgano, o parte del cuerpo. Cada portador debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros componentes de la formulación y no ser perjudicial para el paciente. Algunos ejemplos de materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: azúcares, tales como lactosa, glucosa y sacarosa; almidones, tales como almidón de maíz y almidón de patata; celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa sódica, etilcelulosa y acetato de celulosa; goma tragacanto en polvo; maltosa; gelatina; talco; excipientes, tales como manteca de cacao y ceras para supositorios; aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; glicoles, tales como propilenglicol; polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol; ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; agar; agentes tamponantes, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; ácido algínico; agua libre de pirógenos; solución salina isotónica; solución de Ringer; alcohol etílico; disoluciones tamponadas para el pH; poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; y otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas.

Las formulaciones de la divulgación incluyen aquellas adecuadas para administración oral, nasal, tópica (incluyendo bucal y sublingual), rectal, vaginal y/o parenteral. Las formulaciones pueden presentarse convenientemente en forma de dosificación unitaria y pueden prepararse mediante cualquier método que se conoce bien en la técnica de la farmacia. La cantidad de principio activo (por ejemplo, dominio variable único de inmunoglobulina o los constructos de polipéptido del mismo) que puede combinarse con un material portador para producir una forma de dosificación única variará dependiendo del huésped que esté tratándose y el modo de administración particular. La cantidad de principio activo que puede combinarse con un material portador para producir sola forma de dosificación única será generalmente la cantidad del compuesto que produce un efecto terapéutico. Generalmente, esta cantidad oscilará desde aproximadamente el 1% hasta aproximadamente el 99% de principio activo, preferiblemente desde aproximadamente el aproximadamente 5% hasta aproximadamente el 70%, lo más preferiblemente desde aproximadamente el 10% hasta aproximadamente el 30%.

En determinadas realizaciones, una formulación comprende un excipiente seleccionado del grupo que consiste en ciclodextrinas, liposomas, agentes formadores de micelas, por ejemplo, ácidos biliares y portadores poliméricos, por ejemplo, poliésteres y polianhídridos. En determinadas realizaciones, una formulación mencionada anteriormente hace que esté biodisponible por vía oral un constructo de polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina.

Los métodos para preparar estas formulaciones o composiciones incluyen la etapa de asociar un constructo de polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina con el portador y, opcionalmente, uno o más componentes auxiliares. En general, las formulaciones se preparan asociando de manera uniforme e íntima un constructo de polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina con portadores líquidos, o portadores sólidos finamente divididos, o ambos, y luego, si es necesario, moldeando el producto.

Las formulaciones adecuadas para administración oral pueden estar en forma de cápsulas, sellos, píldoras, comprimidos, pastillas para chupar (usando una base aromatizada, generalmente sacarosa y goma arábiga o goma tragacanto), polvos, gránulos, o como una disolución o suspensión en un líquido acuoso o no acuoso, o como una emulsión líquida de aceite en agua o de agua en aceite, o como un elixir o jarabe, o como pastillas (usando una base inerte, tal como gelatina y glicerina, o sacarosa y goma arábiga) y/o como colutorios y similares, cada uno de los cuales contiene una cantidad predeterminada de un constructo de polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina como principio activo. También puede administrarse un constructo de polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina de la invención como un bolo, electuario o una pasta.

En formas de dosificación sólidas para administración oral (cápsulas, comprimidos, píldoras, grageas, polvos, gránulos y similares), el principio activo se mezcla con uno o más portadores farmacéuticamente aceptables, tales como citrato de sodio o fosfato de dicalcio, y/o cualquiera de los siguientes: cargas o extendedores, tales como almidones, lactosa, sacarosa, glucosa, manitol y/o ácido silícico; aglutinantes, tales como, por ejemplo, carboximetilcelulosa, alginatos, gelatina, polivinilpirrolidona, sacarosa y/o goma arábiga; humectantes, tales como glicerol; agentes disgregantes, tales como agar-agar, carbonato de calcio, almidón de patata o tapioca, ácido algínico, determinados silicatos y carbonato de sodio; agentes retardadores de la disolución, tales como parafina; aceleradores de la absorción, tales como compuestos de amonio cuaternario; agentes de humectación, tales como, por ejemplo, alcohol cetílico, monoestearato de glicerol y tensioactivos no iónicos; absorbentes, tales como caolín y arcilla de tipo bentonita; lubricantes, tales como talco, estearato de calcio, estearato de magnesio, polietilenglicoles sólidos, laurilsulfato de sodio, y mezclas de los mismos; y agentes colorantes. En el caso de cápsulas, comprimidos y píldoras, las composiciones farmacéuticas también pueden comprender agentes tamponantes. Las composiciones sólidas de un tipo similar también pueden emplearse como cargas en cápsulas de gelatina de cubierta dura y blanda usando excipientes tales como lactosa o azúcares de la leche, así como polietilenglicoles de alto peso molecular y similares.

Puede producirse un comprimido mediante compresión o moldeo, opcionalmente con uno o más componentes auxiliares. Pueden prepararse comprimidos sometidos a compresión usando aglutinante (por ejemplo, gelatina o hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, glicolato sódico de

almidón o carboximetilcelulosa sódica reticulada), agente tensioactivo o dispersante. Pueden producirse comprimidos moldeados en una máquina adecuada en la que se humedece una mezcla del compuesto en polvo con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos y otras formas de dosificación sólidas de las composiciones farmacéuticas, tales como grageas, cápsulas, píldoras y gránulos, opcionalmente pueden ranurarse o prepararse con recubrimientos y cubiertas, tales como recubrimientos entéricos y otros recubrimientos que se conocen bien en la técnica de la formulación farmacéutica. También pueden formularse para proporcionar una liberación lenta o controlada del principio activo en las mismas usando, por ejemplo, hidroxipropilmetilcelulosa en proporciones variables para proporcionar el perfil de liberación deseado, otras matrices de polímeros, liposomas y/o microesferas. Pueden formularse para una liberación rápida, por ejemplo, liofilizarse. Pueden esterilizarse, por ejemplo, mediante filtración a través de un filtro de retención de bacterias, o incorporando agentes esterilizantes en forma de composiciones sólidas estériles que pueden disolverse en agua estéril, o algún otro medio inyectable estéril inmediatamente antes de su uso. Estas composiciones también pueden contener opcionalmente agentes opacificantes y pueden tener una composición tal que liberan el principio o principios activos sólo, o preferentemente, en una determinada parte del tubo digestivo, opcionalmente, de manera retardada. Los ejemplos de composiciones de inclusión que pueden usarse incluyen sustancias poliméricas y ceras. El principio activo también puede estar en forma microencapsulada, si es apropiado, con uno o más de los excipientes descritos anteriormente.

Las formas de dosificación líquidas para administración oral incluyen emulsiones, microemulsiones, disoluciones, suspensiones, jarabes y elixires farmacéuticamente aceptables. Además del principio activo, las formas de dosificación líquidas pueden contener diluyentes inertes usados habitualmente en la técnica, tales como, por ejemplo, agua u otros disolventes, agentes solubilizantes y emulsionantes, tales como alcohol etílico, alcohol isopropílico, carbonato de etilo, acetato de etilo, alcohol bencílico, benzoato de bencilo, propilenglicol, 1,3-butilenglicol, aceites (en particular, aceites de semilla de algodón, maní, maíz, germen, oliva, ricino y sésamo), glicerol, alcohol tetrahidrofurílico, polietilenglicoles y ésteres de ácidos grasos de sorbitano, y mezclas de los mismos.

Además de los diluyentes inertes, las composiciones orales también pueden incluir adyuvantes tales como agentes humectantes, agentes emulsionantes y de suspensión, agentes edulcorantes, aromatizantes, colorantes, perfumantes y conservantes.

Las suspensiones, además de los compuestos activos, pueden contener agentes de suspensión como, por ejemplo, alcoholes isoestearílicos etoxilados, ésteres de polioxietileno de sorbitol y sorbitano, celulosa microcristalina, metahidróxido de aluminio, bentonita, agar-agar y goma tragacanto, y mezclas de los mismos.

Las formulaciones de las composiciones farmacéuticas para administración rectal o vaginal pueden presentarse como un supositorio, que puede prepararse mezclando un constructo de polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina con uno o más excipientes o portadores no irritantes adecuados que comprenden, por ejemplo, manteca de cacao, polietilenglicol, una cera para supositorios o un salicilato, que es sólida a temperatura ambiente, pero líquida a la temperatura corporal y, por tanto, se derretirá en el recto o la cavidad vaginal y liberará el compuesto activo.

Las formulaciones adecuadas para administración vaginal también incluyen óvulos vaginales, tampones, cremas, geles, pastas, espumas o formulaciones en aerosol que contienen tales portadores ya que se sabe en la técnica que son apropiados.

Las formas de dosificación para la administración tópica o transdérmica de un constructo de polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina incluyen polvos, pulverizaciones, pomadas, pastas, cremas, lociones, geles, disoluciones, parches e inhalantes. El compuesto activo puede mezclarse en condiciones estériles con un portador farmacéuticamente aceptable, y con cualquier conservante, tampón o propelente que se requiera.

Las pomadas, pastas, cremas y los geles pueden contener excipientes, tales como grasas animales y vegetales, aceites, ceras, parafinas, almidón, goma tragacanto, derivados de celulosa, polietilenglicoles, siliconas, bentonitas, ácido silícico, talco y óxido de zinc, o mezclas de los mismos.

Los polvos y las pulverizaciones pueden contener excipientes tales como lactosa, talco, ácido silícico, hidróxido de aluminio, silicatos de calcio y polvo de poliamida, o mezclas de estas sustancias. Las pulverizaciones pueden contener adicionalmente propelentes habituales, tales como clorofluorohidrocarbonos e hidrocarburos volátiles no sustituidos, tales como butano y propano.

Los parches transdérmicos tienen la ventaja añadida de proporcionar un suministro controlado de un constructo de polipéptido o dominio variable único de inmunoglobulina al cuerpo. Disolver o dispersar el compuesto en el medio apropiado puede producir tales formas de dosificación. También pueden usarse potenciadores de la absorción para aumentar el flujo del compuesto a través de la piel. Proporcionar una membrana que controla la velocidad o dispersar el compuesto en una matriz polimérica o gel puede controlar la velocidad de tal flujo.

Las formulaciones oftálmicas, pomadas, polvos, disoluciones para ojos y similares, también se contemplan dentro del alcance de esta descripción.

Las composiciones farmacéuticas adecuadas para administración parenteral comprenden uno o más constructos de polipéptido o dominios variables únicos de inmunoglobulina en combinación con una o más disoluciones, dispersiones, suspensiones o emulsiones acuosas o no acuosas isotónicas estériles farmacéuticamente aceptables, o polvos estériles que pueden reconstituirse en disoluciones o dispersiones inyectables estériles justo antes de su uso, que pueden contener azúcares, alcoholes, antioxidantes, tampones, bacteriostáticos, solutos que hacen que la formulación sea isotónica con la sangre del receptor o agentes de suspensión o espesantes.

Los ejemplos de portadores acuosos y no acuosos adecuados, que pueden emplearse en las composiciones farmacéuticas incluyen agua, etanol, polioles (tales como glicerol, propilenglicol, polietilenglicol, y similares), y mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, tales como aceite de oliva, y ésteres orgánicos inyectables, tales como el oleato de etilo. Puede mantenerse una fluidez adecuada, por ejemplo, mediante el uso de materiales de recubrimiento, tales como la lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de dispersiones, y mediante el uso de tensioactivos.

Estas composiciones también pueden contener adyuvantes tales como conservantes, agentes humectantes, agentes emulsionantes y agentes dispersantes. El impedirse la acción de los microorganismos sobre los compuestos objeto puede garantizarse mediante la inclusión de diversos agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabeno, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, y similares. También puede ser deseable incluir agentes isotónicos, tales como azúcares, cloruro de sodio, y similares en las composiciones. Además, la absorción prolongada de la forma farmacéutica inyectable puede lograrse mediante la inclusión de agentes que retardan la absorción, tales como el monoestearato de aluminio y la gelatina.

En algunos casos, para prolongar el efecto de un medicamento, es deseable ralentizar la absorción del fármaco a partir de la inyección subcutánea o intramuscular. Esto puede lograrse mediante el uso de una suspensión líquida de material cristalino o amorfo que tiene escasa solubilidad en agua. La velocidad de absorción del fármaco depende entonces de su velocidad de disolución que puede depender, a su vez, del tamaño cristalino y la forma cristalina. Alternativamente, la absorción retardada de una forma de fármaco administrada por vía parenteral se logra disolviendo o suspendiendo el fármaco en un vehículo oleoso.

Se preparan formas de depósito inyectables formando matrices de microencapsulación de los compuestos objeto en polímeros biodegradables tales como polilactida-poliglicolida. Dependiendo de la razón de fármaco con respecto a polímero, y la naturaleza del polímero particular empleado, puede controlarse la velocidad de liberación del fármaco. Los ejemplos de otros polímeros biodegradables incluyen poli(ortoésteres) y poli(anhídridos). Las formulaciones inyectables de depósito también se preparan atrapando el medicamento en liposomas o microemulsiones, que son compatibles con el tejido corporal.

En otro aspecto, se proporcionan kits que comprenden una molécula de unión de la invención, una molécula de ácido nucleico de la invención, un vector de la invención o una célula huésped de la invención. El kit puede comprender uno o más viales que contienen la molécula de unión e instrucciones de uso. El kit también puede contener medios para administrar la molécula de unión de la presente invención, tales como una jeringa, bomba, un infusor o similar.

Las realizaciones ilustradas y comentadas en esta memoria descriptiva están destinadas únicamente a enseñar a los expertos en la técnica la mejor manera conocida por los inventores para producir y usar la invención. Son posibles modificaciones y variaciones de las realizaciones de la invención descritas anteriormente, tal como apreciarán los expertos en la técnica a la luz de las enseñanzas anteriores. Por tanto, se entiende que, dentro del alcance de las reivindicaciones, la invención puede llevarse a la práctica de una forma distinta a la descrita específicamente.

La invención se describirá ahora adicionalmente por medio de los siguientes aspectos, ejemplos y figuras preferidos no limitativos.

Ejemplos

Ejemplo 1: Materiales y métodos

1.1 Líneas celulares transfectadas con TCR αβ/CD3

Se generaron líneas celulares transitorias y estables CHO-K1 (ATCC: CCL-61), HEK293H (Life Technologies 11631-017), Llana (células de fibroblastos de células del cordón umbilical de llama Navel) con sobreexpresión recombinante de las 6 cadenas del complejo de receptor de células T humanas completo. Para ello, se clonaron las secuencias codificantes de la cadena alfa (α) de TCR y beta (β) de TCR en un vector derivado de pcDNA3.1, en el

sentido de 3' de un promotor de CMV y se insertó una secuencia de péptido viral similar a 2A entre ambas cadenas para inducir salto ribosómico durante la traducción de la poliproteína. En el mismo vector, se clonaron las secuencias codificantes de las cadenas épsilon, delta, gamma y zeta del complejo CD3 en el sentido de 3' de un promotor de CMV adicional, también usando secuencias de péptidos virales similares a 2A entre las cadenas respectivas. Además, se generó un clon de HEK293H estable con sobreexpresión recombinante de las 4 cadenas de CD3 humano tal como se describió anteriormente usando un único vector génico.

Las secuencias usadas para los dominios constantes de CD3 y TCRα/β humanos derivaron de UniProtKB (CD3 delta: P04234, CD3 gamma: P09693, CD3 épsilon: P07766, CD3 zeta: P20963, TCR α: P01848 y TCR β: P01850; SEQ ID NO: 344 a 349, respectivamente). Las secuencias para los dominios variables de TCRα/β humanos derivaron de secuencias de estructura cristalina (códigos PDB: 2IAN, 2XN9 y 3TOE) (dominios variables de TCR α humano derivados de 2IAN, 2XN9 y 3TOE con SEQ ID NO: 393 a 395, respectivamente; dominios variables de TCR β humano derivados de 2IAN, 2XN9 y 3TOE con SEQ ID NO: 476 a 478, respectivamente).

Se confirmó la expresión en la superficie celular del complejo de receptor de células T humanas mediante citometría de flujo usando un anticuerpo IgG2b funcional de ratón anti-TCRα/β humano, clon BW242/412 (Miltenyi 130-098-219) y un anticuerpo IgG2a funcional de ratón anti-CD3 marcado con PE, clon OKT-3 (eBioscience 12-0037) (figura 1).

1.2 Proteínas TCR $\alpha\beta$ recombinantes solubles

Se generaron de manera interna proteínas TCR α/β humanas y de mono Rhesus/macaco cangrejero solubles. Las secuencias para la parte extracelular del dominio constante de TCRα/β humano derivaron de UniProtKB (TCR α: P01848 y TCR β: P01850; SEQ ID NO: 479 y 480, respectivamente). Los dominios variables de TCR α/β humano derivaron de la secuencia de estructura cristalina (código PDB: 2XN9, SEQ ID NO: 394 y 477, respectivamente para las cadenas α y β).

Las secuencias para la parte extracelular de los dominios constantes de TCR α/β de macaco cangrejero/mono Rhesus derivaron de los archivos de GenBank EHH63463 y AEA41868, respectivamente (SEQ ID NO: 396 y 397). Las secuencias para los dominios variables de TCR α/β de macaco cangrejero/mono Rhesus derivaron de AEA41865 y AEA41866 (SEQ ID NO: 398 y 399, respectivamente para las cadenas α y β).

Los dominios extracelulares de TCR α/β humano (2XN9) o TCR α/β de macaco cangrejero/mono Rhesus se fusionaron a una secuencia codificante de proteína de cremallera (O'Shea *et al.* 1993 Curr. Biol. 3 (10): 658-667), producida por células CHOK1SV (Lonza) usando el GS Gene Expression System™ de Lonza y posteriormente se purificaron.

Se evaluó la calidad de las proteínas de cremallera-TCR α/β en un ensayo de unión ELISA. Se recubrieron placas de ELISA de 96 pocillos Maxisorp (Nunc) con proteína de cremallera-TCR α/β (2XN9) humana recombinante soluble 2 μg/ml o proteína de cremallera-TCR α/β de macaco cangrejero recombinante soluble. Después de una incubación durante la noche, se lavaron las placas y se bloquearon con PBS + 1% de caseína durante 1 hora a temperatura ambiente. A continuación, se incubaron las placas con diluciones en serie de un Nanobody etiquetado con FLAG funcional o el anticuerpo funcional IgG de ratón anti-TCRα/β de rata/primate no humano, clon R73 (eBioscience 16-5960) durante 1 hora a temperatura ambiente mientras se agitaba, se lavaron de nuevo y se incubaron con anticuerpo de ratón anti-FLAG-HRP (Sigma, #A8592), respectivamente anticuerpo de conejo anti-ratón-HRP (Dako, #P0260). Después de 1 h, se añadió TMB One Solution (Promega #G7431). Se detuvo la reacción con H_2SO_4 2 M y se determinó la unión dependiente de la dosis midiendo la DO a 450 nm usando la unidad Tecan sunrise 4 (figura 2).

Ejemplo 2: Inmunización de llamas con TCR/CD3, clonación de los repertorios de fragmentos de anticuerpo de cadena pesada y preparación de fagos

2.1 Inmunización

Se propuso generar anticuerpos de cadena pesada sólo en camélidos (por ejemplo, llama y alpaca) contra las cadenas constantes del receptor de células T (TCR) α y/o β. Aunque el complejo de receptor de células T nativas consiste en cadenas CD3 (gamma, delta, épsilon y zeta), así como cadenas α y β de TCR, se planteó la hipótesis de que la ausencia de cadenas CD3 facilitaría el acceso a los dominios constantes del TCR. Especialmente porque las cadenas CD3 rodean lateralmente y limitan el acceso a los dominios constantes de las cadenas α y β de TCR. Al contrario de la experiencia de los inventores con otras dianas, la obtención de una respuesta inmunitaria frente a las cadenas α o β de TCR no fue tan sencilla como se esperaba.

En un enfoque final, después de la aprobación del Comité Ético (CRIA, LA1400575, Bélgica- EC2012 #1), los inventores intentaron un protocolo de inmunización compleja con ADN que codifica para el complejo de células T. En resumen, se inmunizaron 3 llamas adicionales con un vector plasmídico pVAX1-TCR(2IAN)/CD3 humano (descrito

en el ejemplo 1.2) (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE.UU.) y con un vector plasmídico pVAX1-TCR(2XN9)/CD3 humano (descrito en el ejemplo 1.2) (Invitrogen, Carlsbad, CA, EE.UU.) según protocolos convencionales. Dos llamas recibieron adicionalmente 1 inyección subcutánea de células T humanas primarias. Se recogieron células T humanas de sangre de capa leucocítica, de voluntarios sanos (banco de sangre Gent) usando el cóctel RosetteSep (StemCell Technologies, #15061) seguido de enriquecimiento en Ficoll-Paque™ PLUS (GE Healthcare #17-1440-03) según las instrucciones del fabricante y se almacenaron en nitrógeno líquido. Después de descongelarse, se lavaron las células y se resuspendieron en D-PBS de Gibco y se mantuvieron en hielo antes de la inyección.

2.2 Clonación de los repertorios de fragmentos de anticuerpo de cadena pesada y preparación de fagos

Por animal, se extrajeron muestras de sangre después de la inyección de un tipo de antígeno de inmunización. A partir de estas muestras de sangre, se prepararon PBMC usando Ficoll-Hypaque según las instrucciones del fabricante (Amersham Biosciences, Piscataway, NJ, EE.UU.). Para cada llama inmunizada, se construyeron bibliotecas combinando el ARN total aislado de las muestras procedentes de un determinado subconjunto del programa de inmunización, es decir, después de un tipo de antígeno de inmunización.

En resumen, se clonó el repertorio de VHH amplificado por PCR a través de sitios de restricción específicos en un vector diseñado para facilitar la presentación en fagos de la biblioteca de VHH. El vector derivó de pUC119. En marco con la secuencia codificante de VHH, el vector codifica para una etiqueta His6 y 3xFLAG C-terminal. Se prepararon fagos según protocolos convencionales (véanse, por ejemplo, los documentos WO 04/041865, WO 04/041863, WO 04/062551, WO 05/044858 y otra técnica anterior y solicitudes presentadas por Ablynx N.V. citadas en el presente documento).

Ejemplo 3: Selección de VHH específicos de TCR/CD3 mediante presentación en fagos

La gran mayoría de los VHH seleccionados estaban dirigidos contra las regiones variables de la cadena α de TCR o β de TCR. Por tanto, los inventores tuvieron que idear diferentes estrategias de selección y contraselección.

En resumen, se usaron los repertorios de VHH obtenidos de todas las llamas y clonados como biblioteca de fagos en diferentes estrategias de selección, aplicando una multiplicidad de condiciones de selección. Las selecciones que usaron líneas celulares transfectadas con TCR/CD3 humano con el mismo dominio variable que se usó durante la inmunización dieron como resultado sólo agentes de unión de dominio variable. Por tanto, se usaron herramientas que contienen un dominio de TCRα/β variable diferente (células transfectadas (descritas en el ejemplo 1.1), proteína soluble (descrita en el ejemplo 1.2) o células T humanas primarias (aisladas tal como se describe en el ejemplo 2.1)) durante las selecciones y demostraron ser cruciales en la identificación de agentes de unión de dominio constante. Las variables adicionales durante las selecciones incluyeron el método de presentación de antígeno (en disolución cuando se usan células o recubiertos en placas cuando se usan proteínas), la concentración de antígeno, el ortólogo usado (proteína TCR α/β recombinante humana o de macaco cangrejero) y el número de tandas de selección. Todas las selecciones en fase recubierta sólida se realizaron en placas de 96 pocillos Maxisorp (Nunc, Wiesbaden, Alemania).

Las selecciones se realizaron de la siguiente manera: las preparaciones de antígeno TCRα/β-CD3 para formatos de selección en fase sólida y en disolución se presentaron tal como se describió anteriormente a múltiples concentraciones. Después de 2 h de incubación con las bibliotecas de fagos, seguido de un lavado exhaustivo, los fagos unidos se eluyeron con tripsina (1 mg/ml) durante 15 minutos. La actividad proteasa de tripsina se neutralizó inmediatamente aplicando un inhibidor de proteasas 0,8 mM, ABSF. Como control, se realizaron en paralelo selecciones sin antígeno.

Se usaron los fagos obtenidos para infectar *E. coli* para el análisis de clones de VHH individuales. Se prepararon extractos periplásmicos según protocolos convencionales (véanse, por ejemplo, los documentos WO 03/035694, WO 04/041865, WO 04/041863, WO 04/062551 y otra técnica anterior y las solicitudes presentadas por Ablynx N.V. citadas en el presente documento).

Ejemplo 4: Cribado, análisis de secuencia y purificación.

4.1 Cribado de Nanobodies de unión a TCR/CD3 en un ensayo de citometría de flujo

Se cribaron los extractos periplásmicos para determinar la unión a TCR/CD3 expresado en células usando células CHO-K1 o HEK293H transfectadas con TCR/CD3 humano y la línea celular de referencia CHO-K1 o HEK293H respectiva en una configuración de línea celular mixta. Con este fin, un gran lote de las líneas celulares de referencia se marcaron con PKH26 8 μM y se congelaron. Se mezclaron $5x10^4$ células de referencia marcadas con PKH con $5x10^4$ células diana y se incubaron con extractos periplásmicos durante 30 min a 4ºC, y se lavaron 3 veces. A continuación, se incubaron las células con anticuerpo monoclonal ANTI-FLAG® M2 1 μg/ml (Sigma-Aldrich, n.º de cat. F1804) durante 30 min a 4ºC, se lavaron de nuevo y se incubaron durante 30 min a 4ºC con anticuerpo de cabra anti-ratón marcado con APC (Jackson Immunoresearch 115-135-164, 1:100). Se lavaron las muestras, se

resuspendieron en tampón de FACS (D-PBS de Gibco, con FBS al 10% de Sigma y azida de sodio al 0,05% de Merck) y luego se analizaron a través de un aparato BD FACSArray. En primer lugar, se seleccionó una población P1 que representaba más del 80% de la población celular total basándose en la distribución de FSC-SSC. En esta selección, se contaron 20.000 células durante la adquisición. Basándose en la distribución de PKH26-SSC, se seleccionó la población parental marcada con PKH y la población diana no marcada con TCR/CD3 humano. Para estas 2 poblaciones se calculó el valor medio de APC.

4.2 Detección de Nanobodies de unión a TCR/CD3 en un ensayo de activación de células T humanas

Después de varios intentos, resultó que la activación de células T humanas purificadas por anticuerpos o Nanobodies según los protocolos convencionales, es decir, recubiertos sobre una placa de 96 pocillos, no fue lo suficientemente sensible (datos no mostrados).

Para evaluar la actividad, se desarrolló un ensayo diferente, basado en la activación de células T acopladas a perlas. En resumen, se recubrieron perlas Dynabeads de IgG de cabra anti-ratón (Life technologies #11033) con anticuerpos IgG de ratón anti-FLAG (Sigma F1804), (15 μg/1E7 perlas). Después de un periodo de incubación de 2 horas a 4ºC, se lavaron las perlas y se incubaron con 80 μl de extracto periplásmico durante 20 min a 4ºC mientras se agitaba. Se retiraron por lavado los Nanobodies no acoplados antes de añadir el complejo de perlas junto con el anticuerpo de ratón anti-CD28 soluble (Pelicluster CD28 - Sanquin #M1650) a células T humanas primarias purificadas (aisladas tal como se describe en el ejemplo 2.1). Como condición de control, se usaron células T humanas no estimuladas. En resumen, se incubaron perlas Dynabeads de IgG de cabra anti-ratón acoplados a IgG de ratón anti-FLAG en 80 μl de extracto periplásmico que contenía Nanobodies irrelevantes. Después de la retirada de los Nanobodies no acoplados durante una etapa de lavado, se añadió el complejo Nanobody irrelevante-perla a las células T humanas primarias purificadas.

Después de una incubación de 24 h a 37ºy el 5% de CO_2, se determinó el estado de activación de células T humanas midiendo el nivel de expresión de CD69 en citometría de flujo usando anticuerpo de ratón monoclonal anti-CD69PE humano (BD Biosciences #557050).

4.3 Análisis de secuencia de los Nanobodies obtenidos

Se secuenciaron los Nanobodies que obtuvieron resultados positivos en el cribado de unión por citometría de flujo y el ensayo de activación de células T.

El análisis de secuencia demostró que todos los ISV anti-TCR comprendían una CDR3 muy similar. En particular, la CDR3 tiene la secuencia de aminoácidos X_1SR X_2X_3PYX_4Y, en la que X_1 es F, Y, G, L o K, X_2 es I o L, X_3 es Y o W, y X_4 es D, N o S.

El análisis de secuencia dio como resultado además la identificación de 3 agrupaciones distintas. Se proporcionan las alineaciones correspondientes (tabla A-1, tabla A-2, tabla A-3). El agrupamiento se basó en similitudes de secuencia y diferencias en CDR2 y CDR3. La agrupación A es la más destacada, comprendiendo 104 clones (SEQ ID NO:1-104), la agrupación B comprende 11 clones (SEQ ID NO:105-115), y la agrupación C está representada por sólo 3 clones (SEQ ID NO:116-118)

Se determinó la variabilidad de secuencia de las CDR para las diferentes agrupaciones. Para la agrupación A, se usó como referencia la secuencia de aminoácidos de las CDR del clon 56G05, frente a la que se compararon las CDR de todos los demás clones de la agrupación A. La variabilidad de secuencia frente a 56G05 se representa en las tablas a continuación.

56G05	CDR1									
numeración de Kabat	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
numeración absoluta	1	2	3	4	5*	6	7	8	9	10
secuencia de 56G05	G	D	V	H	K	I	N	F	L	G
variaciones		A		Y	L	L		I		S
variaciones		S						V		
variaciones		E								
variaciones		G								

*en el caso de que la posición 5 sea una L, entonces la posición 6 también es L

56G05	CDR2								
numeración de Kabat	50	51	52	53	54	55	56	57	58
numeración absoluta	1	2	3	4	5	6	7	8	9
secuencia de 56G05	H	I	S	I	G	D	Q	T	D
variaciones	T		T		S		D	V	A
variaciones	R		A		A		E	A	Q
variaciones							T		N
variaciones							A		V
variaciones							V		S

56G05	CDR3								
numeración de Kabat	95	96	97	98	99	100	100a	101	102
numeración absoluta	1	2	3	4	5	6	7	8	9
secuencia de 56G05	F	S	R	I	Y	P	Y	D	Y
variaciones	Y			L	W			N	
variaciones	G							S	
variaciones	L								

Para la agrupación B, se usó como referencia la secuencia de aminoácidos de las CDR del clon 55C07, frente a la que se compararon las CDR de todos los demás clones de la agrupación B. La variabilidad de secuencia frente a 55C07 se representa en las tablas a continuación.

55C07	CDR1									
numeración de Kabat	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
numeración absoluta	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
secuencia de 55C07	G	E	T	F	K	I	N	I	W	G
variaciones		Q				V				

55C07	CDR2								
numeración de Kabat	50	51	52	53	54	55	56	57	58
numeración absoluta	1	2	3	4	5	6	7	8	9
secuencia de 55C07	S	L	T	I	G	G	A	T	N
variaciones									D

55C07	CDR3								
numeración de Kabat	95	96	97	98	99	100	100a	101	102
numeración absoluta	1	2	3	4	5	6	7	8	9
secuencia de 55C07	K	S	R	L	Y	P	Y	D	Y
variaciones				I					

Para la agrupación C, se usó como referencia la secuencia de aminoácidos de las CDR del clon 61G01, frente a la que se compararon las CDR de todos los demás clones de la agrupación C. La variabilidad de secuencia frente a 61G01 se representa en las tablas a continuación.

61G01	CDR1									
numeración de Kabat	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35
numeración	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10

absoluta										
secuencia de 61G01	G	E	I	G	R	I	N	F	Y	R
variaciones		Q				V				

61G01	CDR2								
numeración de Kabat	50	51	52	53	54	55	56	57	58
numeración absoluta	1	2	3	4	5	6	7	8	9
secuencia de 61G01	T	I	T	I	A	D	K	T	D
variaciones								I	

61G01	CDR3								
numeración de Kabat	95	96	97	98	99	100	100a	101	102
numeración absoluta	1	2	3	4	5	6	7	8	9
secuencia de 61G01 variaciones	G	S	R	L	Y	P	Y	D	Y

El agrupamiento se basó en la secuencia transmutada en diferencias funcionales (véase a continuación).

4.4 Purificación de Nanobodies monovalentes

Se seleccionaron Nanobodies representativos para cada grupo y se expresaron en *E. coli* TG1 como proteínas con cola de His6, triple Flag. La expresión se indujo mediante la adición de IPTG 1 mM y se dejó continuar durante 4 horas a 37ºC. Después de centrifugar los cultivos celulares, se prepararon extractos periplásmicos por congelación-descongelación de los sedimentos. Estos extractos se usaron como material de partida y los Nanobodies se purificaron mediante IMAC y cromatografía de exclusión molecular (SEC).

Los Nanobodies se purificaron hasta un 95% de pureza según se evaluó mediante SDS-PAGE (datos no mostrados).

Ejemplo 5: Unión de Nanobodies anti-TCR a TCR/CD3 humano expresado en células CHO-K1 y a células T humanas primarias purificadas

Se evaluó la unión de Nanobodies anti-TCR monovalentes purificados a TCR(2XN9)/CD3 humano expresado en células CHO-K1 y a células T humanas primarias purificadas, en citometría de flujo tal como se describe en el ejemplo 4.1. Se aplicaron a las células series de dilución de Nanobodies 55A02 (agrupación A), 56G05 (agrupación A), 68G05 (agrupación B) y 61G01 (agrupación C) partiendo de 1 μM.

Se muestran los resultados en la figura 3.

Los Nanobodies se unieron claramente a TCR/CD3 humano expresado en células CHO-K1. Los representantes de la agrupación A mostraron la mejor afinidad, seguidos por el representante de la agrupación B y el representante de la agrupación C. Los Nanobodies se unieron a las células T humanas primarias purificadas, aunque con una potencia ligeramente menor en comparación con las células CHO-K1 TCR(2XN9)/CD3 humanas. Los representantes de la agrupación A mostraron la mejor afinidad para la unión de las células T humanas primarias, en línea con los datos sobre CHO-K1 (2XN9)/CD3. Los valores de CE50 obtenidos a partir de la curva dosis-respuesta se representan en la tabla C-1.

Tabla C-1: CE50 (M) de Nanobodies monovalentes anti-TCR para unir células CHO-K1 TCR(2XN9)/CD3 humanas y para unir células T primarias purificadas tal como se determina en citometría de flujo.

		CHO-K1TCR (2XN9)/CD3			Células T humanas primarias		
Agrupación	ID de muestra	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
A	T0170055A02	8,4E-09	7,2E-09	9,7E-09	9,1E-08	8,1E-08	1,0E-07
A	T0170056G05	8,9E-09	8,3E-09	9,4E-09	9,1E-08	8,3E-08	9,9E-08
B	T0170068G05	1,2E-08	1,0E-08	1,3E-08	> 1E-07	/	/
C	T0170061G01	3,1E-08	2,8E-08	3,4E-08	> 1E-07	/	/

Ejemplo 6: Determinación del epítopo de unión.

Se evaluó la unión de Nanobodies anti-TCR purificados monovalentes a TCR(2IAN)/CD3 humano expresado en células HEK293H y se comparó con la unión a células HEK293H transfectadas con CD3 humano en citometría de flujo, tal como se describe en el ejemplo 5. Se aplicaron series de dilución de Nanobodies anti-TCR partiendo de 1 μM a las células. La línea celular HEK293H parental se incluyó como línea celular negativa para TCR/CD3.

Se muestran los resultados en la figura 4.

Los Nanobodies se unieron claramente a TCR(2IAN)/CD3 humano expresado en HEK293H pero no a las células HEK293H transfectadas sólo con CD3 humano, ni a la línea celular parental HEK293H. Los valores de CE50 obtenidos a partir de la curva dosis-respuesta se representan en la tabla C-2.

Tabla C-2: CE50 (M) de Nanobodies monovalentes anti-TCR para la unión a TCR(2IAN)/CD3 humano o CD3 humano expresado en células HEK293H, tal como se determina en citometría de flujo.

		HEK293H wt		HEK293H CD3		HEK293H TCR/CD3	
Agrupación	ID de muestra	CE50	MCF a 1 μM	CE50	MCF a 1 μM	CE50	MCF a 1 μM
A	T0170055A02	Sin ajuste	246	Sin ajuste	1194	5,5E-08	91229
A	T0170056G05	Sin ajuste	299	Sin ajuste	352	8,4E-08	86510
B	T0170068G05	Sin ajuste	206	Sin ajuste	240	> 1E-07	31202
C	T0170061G01	Sin ajuste	374	Sin ajuste	495	> 1E-07	10032

En conclusión, los clones fueron específicos para la unión al TCR α/β humano. No se observó unión al CD3 humano.

Ejemplo 7: Unión de Nanobodies anti-TCR a proteína TCR α/β humana recombinante soluble

7.1 Unión de Nanobodies anti-TCR a la proteína receptora de células T humana en ELISA

Se evaluó la unión de Nanobodies contra TCR monovalentes purificados a la proteína TCR α/β humana recombinante soluble en ELISA (tal como se describe en el ejemplo 1.2) usando proteína TCR α/β humana recombinante soluble recubierta directamente a 2 μg/ml.

Se muestran los resultados en la figura 5. Los valores de CE50 obtenidos a partir de la curva dosis-respuesta se representan en la tabla C-3.

Tabla C-3: CE50 (M) de Nanobodies monovalentes anti-TCR para la unión de la proteína TCR(2XN9) humana recombinante soluble, tal como se determina en ELISA.

Agrupación	ID de muestra	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
A	T0170055A02	1,9E-09	1,7E-09	2,2E-09
A	T0170056G05	4,0E-09	3,5E-09	4,6E-09
B	T0170068G05	1,6E-08	1,3E-08	1,9E-08
C	T0170061G01	5,2E-08	4,2E-08	6,5E-08

En conclusión, los clones representativos de todos los grupos se unen a la proteína TCR α/β humana recombinante soluble.

*7.2 Unión de Nanobodies anti-*TCR *a la proteína receptora de células T humanas en BLI*

Se midieron las afinidades de unión usando la interferometría de biocapa (BLI, por sus siglas en inglés) en un instrumento Octet RED384 (Pall ForteBio Corp.). La proteína de cremallera-TCR(2XN9) soluble humana recombinante se inmovilizó de manera covalente en sensores reactivos con amina (ForteBio) mediante química de acoplamiento NHS/EDC. Para el análisis cinético, los sensores se sumergieron primero en tampón en ejecución (Hepes 10 mM, NaCl 150 mM, p20 al 0,05%, pH 7,4 de GE Healthcare Life Sciences) para determinar la configuración de línea base. Posteriormente, se sumergieron los sensores en pocillos que contenían diferentes concentraciones de Nanobodies purificados (intervalo entre 1,4 nM y 1 mM) para la etapa de asociación (180 s) y se transfirieron a los pocillos que contenían tampón de ejecución para la etapa de disociación (15 min). Se calcularon las constantes de afinidad (KD) aplicando un modelo de interacción 1:1 usando el software ForteBio Data Analysis.

Se representan los resultados en la figura 6. Las características de unión se enumeran en la tabla C-4.

Tabla C-4: Análisis cinético de Nanobodies monovalentes anti-TCR para la unión de la proteína TCR(2XN9) humana recombinante soluble tal como se determina con el instrumento Octet RED384.

		Cremallera-sTCR humana (2XN9)		
Agrupación	ID de muestra	kon (1/Ms)	koff (1/s)	KD (M)
A	T0170055A02	4,9E + 04	8,4E-04	1,7E-08
A	T0170056G05	5,0E + 04	1,2E-03	2,4E-08

En conclusión, la afinidad de unión para los representantes de la agrupación A determinada usando BLI en 2XN9 soluble humano mostró correlación con las afinidades determinadas en células CHO-K1(2XN9)/CD3 en citometría de flujo (véase el ejemplo 5).

Ejemplo 8: Determinación de la capacidad de activación de células T humanas primarias purificadas

Se evaluó la funcionalidad de Nanobodies anti-TCR monovalentes purificados en el ensayo de activación de células T humanas. Se recubrieron perlas Dynabeads de IgG de cabra anti-ratón (Life technologies #11033) con anticuerpos IgG de ratón anti-Flag (Sigma F1804), (15 μg/1E7 perlas). Después de un periodo de incubación de 2 horas a 4ºC, se lavaron las perlas y se incubaron con una cantidad fija (1 μg) de Nanobody con etiqueta Flag purificado durante 20 min a 4ºC mientras se agitaba. Se retiraron por lavado los Nanobodies no acoplados antes de añadir el complejo de perlas junto con el anticuerpo de ratón anti-CD28 soluble (Pelicluster CD28 - Sanquin #M1650) a células T humanas primarias purificadas aisladas (aisladas tal como se describe en el ejemplo 2.1) de distintos donantes sanos.

Además, se evaluó el efecto de la unión de TCR monovalente por los Nanobodies mediante la incubación del Nanobody con las células T humanas primarias purificadas sin captura previa sobre perlas Dynabeads de IgG anti-ratón, en presencia de anticuerpo anti-CD28.

Se monitorizó el estado de activación de células T humanas primarias purificadas midiendo la expresión de CD69 en citometría de flujo usando anticuerpo de ratón monoclonal anti-CD69PE humano (BD Biosciences #557050) después de una incubación de 24 h a 37ºC y 5% de CO_2, tal como se describe en el ejemplo 4.2.

En conclusión, los Nanobodies anti-TCR de todas las agrupaciones mostraron una clara regulación por incremento de CD69 después de la captura sobre perlas Dynabeads de IgG anti-ratón. El Nanobody irrelevante no mostró ninguna regulación por incremento de CD69 (figura 7A). Además, ninguno de los Nanobodies presentados en disolución fue capaz de activar las células T humanas primarias purificadas tal como se midió mediante la expresión aumentada de CD69 (figura 7B).

Ejemplo 9: Unión de polipéptidos de unión a TCR multiespecíficos al complejo de receptor de células T humanas expresado en células

Para demostrar que los Nanobodies permiten la redirección de las células T comprometidas a las células tumorales, se eligió el antígeno CD20 como diana tumoral a modo de ejemplo.

Se formatearon diferentes elementos estructurales de unión a TCR (es decir, Nanobodies) en un constructo multiespecífico con un Nanobody que selecciona como diana CD20 humano (véase la tabla C-5). Se ligaron genéticamente Nanobodies efectores y tumorales con un ligador 35GS y posteriormente se expresaron en la levadura *Pichia* según protocolos convencionales (polipéptidos multiespecíficos).

Se generaron constructos irrelevantes reemplazando el Nanobody efector o tumoral por un Nanobody anti-lisozima de huevo irrelevante (cAblys) (tabla C-5)

Tabla C-5: ID de muestra y descripción de constructos multiespecíficos.

	Nanobody diana x Nanobody efector		
Agrupación	ID de muestra	SEQ ID NO	Descripción
A	T017000014	300	20CD019C07-35GS-T0170028B01-FLAG3-HIS6
A	T017000015	301	cAbLys3 (D1E)-35GS-T0170028B01-FLAG3-HIS6
Ctrl	T017000018	302	20CD019C07-35GS-cAbLys3-FLAG3-HIS6
A	T017000054	321	20CD019C07-35GS-T0170055A03-FLAG3-HIS6
A	T017000055	322	20CD019C07-35GS-T0170055A02-FLAG3-HIS6
A	T017000058	323	20CD019C07-35GS-T0170040C01-FLAG3-HIS6
A	T017000060	324	20CD019C07-35GS-T0170028B01-FLAG3-HIS6
A	T017000076	334	20CD019C07-35GS-T0170056G05-FLAG3-HIS6
A	T017000063	325	20CD019C07-35GS-T0170069B08-FLAG3-HIS6
A	T017000064	326	20CD019C07-35GS-T0170068E08-FLAG3-HIS6
B	T017000068	328	20CD019C07-35GS-T0170055C07-FLAG3-HIS6
B	T017000070	330	20CD019C07-35GS-T0170055B06-FLAG3-HIS6
A	T017000069	329	20CD019C07-35GS-T0170055B11-FLAG3-HIS6
A	T017000050	319	20CD019C07-35GS-T0170069C08-FLAG3-HIS6
A	T017000065	327	20CD019C07-35GS-T0170067E06-FLAG3-HIS6
A	T017000078	336	20CD019C07-35GS-T0170069F05-FLAG3-HIS6
A	T017000079	337	20CD019C07-35GS-T0170067D01-FLAG3-HIS6
C	T017000051	320	20CD019C07-35GS-T0170061G01-FLAG3-HIS6
A	T017000075	333	20CD019C07-35GS-T0170067E03-FLAG3-HIS6
	Nb efector x Nb diana		
Agrupación	ID de muestra	SEQ ID NO	Descripción
A	T017000019	303	T0170028B01-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000025	305	T0170028B01-35GS-cAbLys3-FLAG3-HIS6
ctrl	T017000023	304	cAbLys3 (D1E)-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000041	314	T0170055A03-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000042	315	T0170055A02-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000044	316	T0170040C01-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000046	317	T0170028B01-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000074	332	T0170056G05-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000029	306	T0170069B08-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000035	311	T0170068E08-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
B	T017000031	308	T0170055C07-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
B	T017000033	310	T0170055B06-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000032	309	T0170055B11-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000037	312	T0170069C08-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000077	335	T0170067E06-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6

	Nanobody diana x Nanobody efector		
Agrupación	ID de muestra	SEQ ID NO	Descripción
A	T017000049	318	T0170069F05-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000030	307	T0170067D01-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
C	T017000038	313	T0170061G01-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000073	331	T0170067E03-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6

Se evaluó la unión de los constructos multiespecíficos a TCR/CD3 humano expresado en células CHO-K1, células T humanas primarias purificadas y células de Ramos positivas para CD20 (ATCC: CRL-1596) en citometría de flujo tal como se describe en el ejemplo 5. Se presentan los resultados en la figura 8.

Los valores de CE50 obtenidos a partir de la curva dosis-respuesta se representan en la tabla C-6.

Los datos indican una unión similar de los polipéptidos multiespecíficos TCRxCD20 en comparación con sus homólogos monovalentes. Sin embargo, se detectó una unión reducida de los polipéptidos multiespecíficos CD20XTCR a células CHO-K1 TCR(2XN9)/CD3 humanas y células T humanas primarias purificadas en comparación con sus homólogos monovalentes. En la línea celular humana Ramos positiva para CD20, el polipéptido multiespecífico con el CD20 en el extremo C-terminal mostró una unión reducida en comparación con los polipéptidos con el CD20 en el extremo N-terminal.

Ejemplo 10: Caracterización funcional de polipéptidos de unión multiespecíficos CD20xTCR en un ensayo de destrucción basado en citometría de flujo

Para evaluar si los polipéptidos multiespecíficos eran capaces de destruir células tumorales, se realizaron ensayos de citotoxicidad con células T humanas aisladas como células efectoras.

Se aislaron células T humanas tal como se describe en el ejemplo 2.1. La calidad y pureza de las células T humanas purificadas se verificó con anticuerpos marcados con fluorescencia anti-CD3 (eBioscience #12-0037-73), anti-CD8 (BD Biosciences #345775), anti-CD4 (BD Biosciences #345771), anti-CD45RO (BD Biosciences #555493), anti-CD45RA (BD Biosciences #550855), anti-CD19 (BD Biosciences #555413), anti-CD25 (BD Pharmigen #557138) y anti-CD69 (BD Pharmigen #557050) en un ensayo de citometría de flujo. Se usaron células de Ramos que expresan CD20 humano y células de Raji que expresan CD20 humano (ECACC: 85011429), marcadas con el tinte de membrana PKH-26 tal como se describió anteriormente, como células diana. Se incubaron conjuntamente $2{,}5x10^5$ células efectoras y $2{,}5x10^4$ células diana en placas de fondo en V de 96 pocillos a una razón de efector frente a diana de 10:1. Para la medición de la lisis celular dependiente de la concentración, se añadieron diluciones en serie de polipéptidos multiespecíficos (tabla C-5) a las muestras y se incubaron durante 18 h en una atmósfera con el 5% de CO_2 a 37ºC. Después de la incubación, se sedimentaron las células mediwnte centrifugación y se lavaron con tampón de FACS. Posteriormente, se resuspendieron las células en tampón de FACS complementado con TOPRO3 5 nM (Molecular Probes n.º de cat. T3605) para distinguir células vivas de células muertas. Se analizaron las células usando un citómetro de flujo FACS Array (BD Biosciences). Por muestra, se adquirió un volumen de muestra total de 80 µl. Se estableció la selección en células positivas para PKH26, y dentro de esta población se determinaron las células positivas para TOPRO3.

Los polipéptidos multiespecíficos de unión CD20xTCR mostraron destrucción dependiente de la dosis de las células de Ramos (figura 9A). T017000014 (agrupación A, 20CD019C07-35GS-T0170028B01-FLAG3-HIS6) mostró una destrucción dependiente de la dosis tanto en células de Ramos (figura 9A) como de Raji (figura 9B) confirmando que el efecto citotóxico observado no estaba restringido a una única línea de células tumorales. Se determinó el nivel de expresión del antígeno tumoral CD20 para ambas líneas celulares (figura 10).

Los valores de CI50 y el % de lisis obtenidos a partir de la curva dosis-respuesta se representan en la tabla C-7 (% de lisis =% de células muertas a 500 nM de Nanobody menos el % de células muertas del control sin Nanobody).

Estos resultados demuestran que los polipéptidos multiespecíficos contra TCR pueden inducir destrucción mediada por células T de líneas celulares positivas como dianas tumorales. Cuando o bien el Nanobody de selección como diana o bien el Nanobody efector se reemplazó por un Nanobody irrelevante, no pudo observarse ningún efecto sobre la viabilidad de las células de Ramos. No hubo una preferencia clara de la orientación entre los elementos estructurales individuales en el polipéptido multiespecífico.

Ejemplo 11: Caracterización funcional de polipéptidos de unión multiespecíficos CD20xTCR en un ensayo de destrucción basado en xCELLigence

Los polipéptidos multiespecíficos de unión a TCR también se sometieron a prueba para determinar su toxicidad

celular en células diana adherentes transfectadas con CD20 humano en presencia de células T efectoras humanas usando una técnica basada en impedancia eléctrica en tiempo real. En el presente documento, se midieron las fluctuaciones en la impedancia inducidas por la adherencia de las células a la superficie de un electrodo. Las células T no son adherentes y, por tanto, no afectan a las mediciones de impedancia.

En resumen, se colocó la estación xCELLigence en un incubador a 37ºC con el 5% de CO_2. Se añadieron 50 µl de medio de ensayo a cada pocillo de la placa 96 E-plate (ACEA Biosciences; n.º de cat. 05 232 368 001) y se realizó una lectura de blanco en el sistema xCELLigence para medir la impedancia de fondo en ausencia de células. Posteriormente, se sembraron células de referencia CHO-K1 o CHO-K1 transfectadas con CD20 humano ($1x10^4$) en las placas 96 E-plate, y se añadieron 50 µl de una dilución en serie de polipéptido multiespecífico. Después de 30 min a temperatura ambiente, se añadieron 50 µl de células T humanas por pocillo ($3x10^5$) para tener una razón de efector con respecto a diana de 30:1. Se colocó la placa en la estación xCELLigence y se midió la impedancia cada 15 min durante 3 días. Se analizaron los datos usando un punto de tiempo fijo indicado en los resultados.

Los valores de CI50 se representan en la tabla C-8.

Tabla C-8: CI50 (M) de los polipéptidos multiespecíficos en el ensayo de destrucción de CD20 CHO-K1 mediada por células T humanas basado en xCELLigence usando una razón de efector con respecto a diana de 30 a 1, analizada a las 44 h después de la siembra.

Agrupación	ID de Nanobody monovalente	ID de muestra (CD20xTCR)	n	CI50 (M)	ID de muestra (TCRxCD20)	n	CI50 (M)
A	T0170055A02	T017000055	2	1,4E-09	T017000042	2	4,2E-09
A	T0170056G05	T017000076	3	3,6E-10	T017000074	3	1,5E-09
si	T0170055C07	T017000068	1	1,3E-08	T017000031	1	2,1E-09
C	T0170061G01	T017000051	1	2,7E-08	T017000038	1	4,1E-09

Los polipéptidos multiespecíficos mostraron destrucción dependiente de antígeno tumoral. Los polipéptidos multiespecíficos no pudieron inducir la destrucción mediada por células T de las células de referencia CHO-K1, pero indujeron la destrucción mediada por células T humanas dependiente de la dosis de las células CHO-K1 transfectadas con CD20. Se muestra un ejemplo en la figura 11.

Estos resultados confirman el resultado obtenido en el ensayo de destrucción basado en citometría de flujo del ejemplo 10. Además, sólo cuando está presente el antígeno diana tumoral, se observó la destrucción mediada por células T, lo que indica que los polipéptidos multiespecíficos dependen críticamente de su diana para la inducción de citotoxicidad.

Ejemplo 12: Evaluación de la longitud del ligador de los polipéptidos multiespecíficos

Para evaluar el impacto de la longitud del ligador usado en los polipéptidos multiespecíficos de unión a CD20/TCR sobre la capacidad citotóxica, se ligaron genéticamente los elementos estructurales efectores y tumorales con un ligador 5GS (SEQ ID NO: 376), 9GS (SEQ ID NO: 378) o 35GS (SEQ ID NO: 385) y posteriormente se expresaron en *Pichia* según protocolos convencionales (véase la tabla C-9).

Tabla C-9: ID de muestra y descripción del constructo multiespecífico para evaluar el impacto de la longitud del ligador.

	Nanobody diana x Nanobody efector		
Agrupación	ID de muestra	SEQ ID NO	Descripción
A	T017000002	292	20CD019C07-5GS-T0170028B01-FLAG3-HIS6
A	T017000008	296	20CD019C07-9GS-T0170028B01-FLAG3-HIS6
A	T017000014	300	20CD019C07-35GS-T0170028B01-FLAG3-HIS6
A	T017000060	324	20CD019C07-35GS-T0170028B01-FLAG3-HIS6
	Nanobody efector x Nanobody diana		
Agrupación	ID de muestra	SEQ ID NO	Descripción
A	T017000013	299	T0170028B01-9GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000019	303	T0170028B01-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6
A	T017000046	317	T0170028B01-35GS-20CD019C07-FLAG3-HIS6

	Polipéptidos de control		
Agrupación	ID de muestra	SEQ ID NO	Descripción
Ctrl	T017000003	293	cAbLys3 (D1E)-5GS-T0170028B01-FLAG3-HIS6
Ctrl	T017000006	294	20CD019C07-5GS-cAbLys3-FLAG3-HIS6
Ctrl	T017000009	297	cAbLys3 (01E)-9GS-T0170028B01-FLAG3-HIS6
Ctrl	T017000012	298	20CD019C07-9GS-cAbLys3-FLAG3-HIS6
Ctrl	T017000015	301	cAbLys3 (01E)-35GS-T0170028B01-FLAG3-HIS6
Ctrl	T017000018	302	20CD019C07-35GS-cAbLys3-FLAG3-HIS6
Ctrl	T017000023	304	cAbLys3 (01E)-35GS-20C0019C07-FLAG3-HIS6
Ctrl	T017000025	305	T0170028B01-35GS-cAbLys3-FLAG3-HIS6

Se evaluó el impacto de la longitud del ligador usado en los polipéptidos multiespecíficos de unión a CD20/TCR sobre la toxicidad celular inducida por células T efectoras primarias humanas sobre las células diana transfectadas con CD20 humanas CHO-K1 adherentes usando una técnica basada en impedancia eléctrica en tiempo real tal como se describe en el ejemplo 11.

Se resumen los resultados en la figura 12.

Todos los polipéptidos multiespecíficos, es decir, todas las longitudes de ligador demostraron destrucción celular específica. Inesperadamente, los polipéptidos multiespecíficos contra TCR con el ligador más largo (ligador 35GS) mostraron la mejor potencia. En vista de estos resultados, se realizaron experimentos adicionales con polipéptidos multiespecíficos que comprenden el ligador 35GS.

Ejemplo 13: Influencia de la razón de efector con respecto a diana sobre el efecto de destrucción de los polipéptidos multiespecíficos

Para evaluar el efecto de diferentes razones de efector con respecto a diana (E:T) sobre las propiedades de destrucción de los polipéptidos, se incubaron polipéptidos multiespecíficos de unión CD20xTCR con $2{,}5x10^4$ células de Ramos marcadas con PKH en presencia de, respectivamente, $2{,}5x10^5$ (E:T = 10:1), $1{,}25x10^5$ (E:T = 5:1), $5x10^4$ (E:T = 2:1) y $2{,}5x10^4$ (E:T = 1:1) células T humanas primarias tal como se describe en el ejemplo 10.

Se muestran resultados a modo de ejemplo en la figura 13. Los valores de CI50 se representan en la tabla C-10.

Tabla C-10: CI50 (M) de los polipéptidos multiespecíficos en el ensayo de destrucción de Ramos mediada por células T basado en citometría de flujo usando diferentes razones de efector con respecto a diana.

Agrupación	ID de Nanobody monovalente	ID de muestra (CD20xTCR)	E:T	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	% de lisis

Agrupación	ID de Nanobody monovalente	ID de muestra (CD20xTCR)	E:T	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	% de lisis
A	T0170056G05	T017000076	10	1	7,5E-10	5,2E-10	1,1E-09	25
A	T0170056G05	T017000076	5	1	8,9E-10	5,2E-10	1,5E-09	17
A	T0170056G05	T017000076	2	1	1,6E-09	6,1E-10	4,1E-09	10
A	T0170056G05	T017000076	1	1	4,6E-09	3,0E-10	6,9E-08	4
A	T0170055A02	T017000055	10	1	4,1E-09	3,1E-09	5,3E-09	28
A	T0170055A02	T017000055	5	1	2,5E-09	1,6E-09	4,0E-09	15
A	T0170055A02	T017000055	2	1	7,4E-10	3,4E-10	1,6E-09	9
A	T0170055A02	T017000055	1	1	3,4E-09	1,8E-10	6,4E-08	3

Ambos constructos fueron capaces de destruir las células diana CD20 humanas en diferentes razones E:T, incluso en una razón de 1:1, después de un tiempo de incubación de 18 h con poca diferencia en la potencia. Aunque hubo un impacto de la razón E:T sobre el % de lisis, esto también podría estar relacionado con el tiempo de incubación (véase más adelante).

Ejemplo 14: Actividad citolítica dependiente del tiempo de constructos multiespecíficos de unión a CD20/TCR en el ensayo mediado por células T humanas primarias purificadas en xCELLigence

Para evaluar el impacto del tiempo de incubación en las propiedades de destrucción de los constructos multiespecíficos de unión CD20xTCR, se calculó la lisis específica de las células diana para diferentes puntos de tiempo en xCELLigence. En resumen, se colocó la estación xCELLigence en un incubador a 37ºC con el 5% de CO_2. Se añadieron 50 µl de medio de ensayo a cada pocillo de placa 96 E-plate (ACEA Biosciences; n.º de cat. 05 232 368 001) y se realizó una lectura de blanco en el sistema xCELLigence para medir la impedancia de fondo en ausencia de células. Posteriormente, se sembraron células de referencia CHO-K1 o CHO-K1 transfectadas con CD20 humano ($1x10^4$) en las placas 96 E-plate. Después de 20 h, se añadieron $3x10^5$ células T humanas primarias purificadas (descritas anteriormente) y constructos multiespecíficos de 100 nM o 1,5 nM, respectivamente. Se midió el índice celular (IC) cada 15 min durante 5 días. Usando el IC normalizado (el índice celular normalizado - ICN, se calcula dividiendo el valor del índice celular en un punto de tiempo particular entre el valor del índice celular del punto de tiempo cuando se añadieron células T humanas primarias purificadas), se calculó la lisis específica en diferentes puntos de tiempo de la condición con constructos en relación con la condición de que carece de constructo. (% de lisis específica = $((ICN_{\text{sin constructo}} - ICN_{\text{con constructo}})/ICN_{\text{sin constructo}})) \times 100$.

Se representan los resultados en la figura 14.

Ya una hora después de la adición de células T primarias humanas y el constructo multiespecífico, puede observarse un aumento de la lisis celular que claramente aumentó aún más en tiempos de incubación más largos. El efecto máximo dependía claramente del tiempo de incubación, pero el valor de CI50 obtenido no cambió con el aumento de los tiempos de incubación. El constructo irrelevante no mostró ninguna destrucción de las células CHO-K1 transfectadas con CD20 humano.

Ejemplo 15: Exploración de la extensión de la semivida (HLE, *half-life extension*)

Se planteó la hipótesis de que HLE a través de la unión de albúmina podría ser adecuada para cumplir con diversos requisitos, incluyendo (i) extensión de semivida (HLE) del resto; y (ii) eficacia del polipéptido multiespecífico. Preferiblemente, la función HLE no perjudicaría la penetración de tumores y tejidos. Alb11 (SEQ ID NO: 404), un Nanobody que se une a albúmina sérica humana (HSA) se ligó a los polipéptidos de unión CD20xTCR multiespecíficos para aumentar la semivida *in vivo* de las moléculas formateadas (documento WO 06/122787). Se generaron varios formatos basados en el elemento estructural de selección como diana tumoral de CD20 en el extremo N-terminal, los elementos estructurales de reclutamiento de TCRα/β en la parte central y el Nanobody que selecciona como diana albúmina en el extremo C-terminal usando un ligador 35GS y se expresaron tal como se indicó anteriormente. En la tabla C-11 se muestra una descripción general de los formatos explorados.

Tabla C-11: ID de muestra y descripción de constructos de HLE.

Agrupación	ID de muestra	SEQ ID NO	Descripción
A	T017000093	340	20CD019C07-35GS-T0170056G05-35GS-ALB11-FLAG3-HIS6
B	T017000095	341	20CD019C07-35GS-T0170055C07-35GS-ALB11-FLAG3-HIS6

Como la adición del Nanobody Alb11 podría influir en la afinidad o potencia del constructo y la unión de HSA al Nanobody Alb11 podría tener un impacto en la afinidad o potencia de los constructos de semivida extendida, los constructos de semivida extendida se caracterizaron por la unión a TCR que sobreexpresa CHO-K1 y células T humanas primarias. Además, se evaluó la potencia en el ensayo de destrucción de células B de Ramos dependiente de células T funcionales en presencia y ausencia de HSA (descrito en 15.1 y 15.2 a continuación).

15.1 Impacto del elemento estructural Alb11 sobre las propiedades de unión

De manera análoga a los experimentos descritos en el ejemplo 5, se evaluó la unión de polipéptidos anti-TCR de semivida extendida a células CHO-K1 TCR(2XN9)/CD3 humanas, células T humanas primarias y células de Ramos en un ensayo de citometría de flujo en ausencia de HSA.

Se proporcionan los resultados en la figura 15. Los valores de CE50 obtenidos en este ensayo se enumeran en la tabla C-12.

La comparación del constructo CD20-35GS-TCR HLE con los constructos sin HLE mostró una unión similar en las tres líneas celulares sometidas a prueba. Los datos presentados mostraron que el acoplamiento del elemento estructural Alb11 no influyó en las propiedades de unión.

15.2 Impacto de la albúmina sérica humana sobre la potencia en el ensayo de destrucción de células B mediada por células T humanas

La funcionalidad de los polipéptidos anti-TCR de semivida extendida se evaluó en el ensayo de destrucción de Ramos mediada por células T humanas tal como se describe en el ejemplo 10 en presencia y ausencia de HSA 30 μM y se comparó con la funcionalidad de los constructos multiespecíficos sin HLE.

Se representan los resultados en la figura 16. Los valores de CI50 obtenidos en este ensayo se enumeran en la tabla C-13.

Tabla C-13: CI50 (M) y % de lisis por los polipéptidos con HLE en el ensayo de destrucción de células B dependiente de células T (Ramos) para evaluar el efecto de HLE.

Agrupación	ID de muestra	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	% de lisis
A	T017000076	1,1E-10	7,6E-11	1,5E-10	25
A	T017000093	3,4E-10	2,4E-10	4,9E-10	28
A	T017000093	2,7E-10	2,1E-10	3,5E-10	26
A	T017000093 + HSA	1,6E-09	1,1E-09	2,2E-09	21
si	T017000068	5,6E-10	2,7E-10	1,2E-09	12
si	T017000095	3,3E-09	1,8E-09	5,8E-09	16
si	T017000095	1,1E-09	6,5E-10	2,0E-09	16
si	T017000095 + HSA	5,7E-09	2,0E-09	1,6E-08	9

Los resultados indican que la inclusión del Nanobody que selecciona como diana albúmina en el constructo como tal no tuvo un impacto esencial sobre la potencia o eficacia obtenida. Aunque se observó una pérdida menor de eficacia/potencia en presencia de HSA, los polipéptidos multiespecíficos contra TCR de semivida extendida todavía eran potentes en la destrucción de células tumorales.

Ejemplo 16: Caracterización funcional de polipéptidos multiespecíficos en un ensayo de destrucción de tumor positivo para HER2 mediada por células T humanas basado en xCELLigence

Para evaluar la aplicabilidad general de los elementos estructurales de TCR en el direccionamiento de células T a las células tumorales, se combinaron elementos estructurales de unión a TCR con el elemento estructural que se une a un TAA diferente, en este caso un Nanobody que se une a HER2.

Se combinó el elemento estructural anti-TCR con un Nanobody que se une al antígeno tumoral sólido HER2 en dos orientaciones (tabla C-14) y se caracterizó en el ensayo de destrucción de tumor positivo para HER2 mediada por células T humanas basado en xCELLigence tal como se describe en el ejemplo 11 usando dos líneas celulares que expresan HER2 (SKBR3 (ATCC: HTB-30), MCF-7 (ATCC: HTB-22)) y una línea celular de referencia negativa para HER2 (MDA-MB-468 (ATCC HTB-132)) como población de células diana. Se confirmaron los niveles de expresión

de HER2 humano usando 100 nM del Nanobody anti-HER2 monovalente, HER2005F07 (SEQ ID NO: 350) en citometría de flujo tal como se describe en el ejemplo 5. Se muestran los resultados en la figura 17.

Tabla C-14: ID de muestra y descripción de polipéptidos de unión HER2/TCR.

	Nb diana x Nb efector		
Agrupación	ID de muestra	SEQ ID NO	Descripción
A	T017000102	342	HER2005F07 (Q108L) -35GS-T0170056G05-FLAG3-HIS6
	Nb efector x Nb diana		
Agrupación	ID de muestra	SEQ ID NO	Descripción
A	T017000103	343	T0170056G05-35GS-HER2005F07 (Q108L) -FLAG3-HIS6

En resumen, se sembraron SKBR3 ($4x10^4$ células/pocillo), MDA-MB-468 ($4x10^4$ células/pocillo) o MCF-7 ($2x10^4$ células/pocillo) en placas E-plate de 96 pocillos y se incubaron con $6x10^5$ células o $3x10^5$ células de células T humanas primarias (razón efector-diana de 15 a 1) en presencia o ausencia de los constructos multiespecíficos y se siguieron a lo largo del tiempo. Se analizaron los datos después de 18 h y se muestran en la figura 18.

Los valores de CI50 obtenidos en este ensayo se enumeran en la tabla C-15.

Los datos indican la destrucción específica de líneas celulares tumorales positivas para HER2 al dirigir las células T humanas primarias a las células tumorales a través del Nanobody anti-TCR. Por tanto, los elementos estructurales de unión a TCR son ampliamente aplicables para dirigir las células T citotóxicas a tumores. A pesar de la gran diferencia en la densidad del antígeno tumoral en las células SKBR3 y MCF-7, ambos se destruyeron eficazmente mediante la adición de constructos de polipéptido multiespecíficos.

Ejemplo 17: Efecto de los polipéptidos de unión HER2/TCR sobre la liberación de IFN-γ por células T humanas en el ensayo de destrucción de células tumorales positivas para HER2

Para evaluar adicionalmente la amplia aplicabilidad de los elementos estructurales de unión a TCR, se monitorizó la inducción de la liberación de citocinas durante el ensayo de destrucción de SKBR3 mediada por células T humanas basado en xCELLigence. La liberación de la citocina IFN-γ se midió mediante ELISA. Brevemente, se sembraron células SKBR3 en placa 96 E-plate en presencia de células T humanas primarias purificadas con o sin unión de HER2/TCR multiespecífico o polipéptidos irrelevantes tal como se describe en el ejemplo 16. 72 horas después de la adición de los polipéptidos/células T primarias humanas a las placas E-plate, se midió la producción de IFN-γ por las células T primarias humanas. Se recubrieron placas de ELISA de 96 pocillos Maxisorp (Nunc) con anticuerpo anti-IFN-γ humano (BD Biosciences #551221). Después de la incubación durante la noche, se lavaron las placas y se bloquearon con PBS + BSA al 2% durante 1 hora a temperatura ambiente. A continuación, se incubaron las placas con 100 µl de los sobrenadantes (diluidos 2 veces) y anticuerpo anti-IFN-γ humano biotinilado 1 µg/ml (BD Biosciences, #554550) durante 2 h 30 min mientras se agitaba, se lavaron de nuevo y se incubaron con estreptavidina-HRP (Dakocytomation #P0397). Después de 30 min, se añadió TMB One Solution (Promega #G7431). Se detuvo la reacción con H_2SO_4 2 M y se determinó la producción de IFN-γ dependiente de la dosis de polipéptido mediante la medición de la DO a 405 nm usando la unidad Tecan sunrise 4.

Se muestran los resultados en la figura 19. Los valores de CE50 obtenidos en este ensayo se enumeran en la tabla C-16.

Los polipéptidos de unión HER2/TCR multiespecíficos indujeron una producción dependiente de la dosis de la citocina IFN-γ, lo que indica que las células T humanas se activaron sólo en presencia del polipéptido relevante.

Ejemplo 18: Reactividad cruzada de Nanobodies anti-TCR de macaco cangrejero

Se evaluó la reactividad cruzada de los elementos estructurales de unión a TCR con TCR de macaco cangrejero.

18.1 Caracterización funcional de los polipéptidos multiespecíficos en un ensayo de destrucción de tumor positivo para CD20 de Ramos mediada por linfocitos T de macaco cangrejero

En un primer experimento, se estableció un ensayo de destrucción por citometría de flujo, esencialmente tal como se describe en el ejemplo 10, usando $2,5x10^5$ células T primarias de macaco cangrejero (aisladas usando el kit de aislamiento de células T Pan MACS #130-091-993) como células efectoras y $2,5x10^4$ células de Ramos positivas para CD20 humano como células diana.

Los valores de CI50 y el % de lisis obtenido de la curva dosis-respuesta se representan en la tabla C-17. Se

muestran los resultados en la figura 20.

Los polipéptidos multiespecíficos de unión a TCR que contenían un elemento estructural de unión a TCR perteneciente a la agrupación A mostraron destrucción dependiente de la dosis de las células de Ramos usando células T de macaco cangrejero.

18.2 Caracterización funcional de los polipéptidos multiespecíficos en un ensayo de destrucción de células positivas para CD20 humano CHO-K1 mediada por células T de macaco cangrejero

Para evaluar adicionalmente la reactividad cruzada de los elementos estructurales de unión a TCR en los constructos multiespecíficos de unión a TCR/CD20, se usó el ensayo de destrucción basado en xCELLigence usando células T primarias de macaco cangrejero purificadas esencialmente tal como se describe en el ejemplo 11.

El ensayo usó una razón de efector con respecto a diana de 30 a 1, es decir, $3x10^5$ células T efectoras de macaco cangrejero (aisladas usando el kit de aislamiento de células T Pan MACS #130-091-993) y $1x10^4$ células CHO-K1CD20 humanas diana.

Los valores de CI50 obtenidos en este ensayo se enumeran en la tabla C-18. Se resumen los resultados en la figura 21.

Puede concluirse que los polipéptidos multiespecíficos de unión a TCR que contienen un elemento estructural de unión a TCR que pertenece a la agrupación A mostraron destrucción dependiente de la dosis de las células transfectadas con CHO-K1 CD20 usando células T de macaco cangrejero. Por tanto, los Nanobodies de la agrupación A reaccionan de manera cruzada con las células T primarias de macaco cangrejero y pueden provocar una destrucción potente basada en estas células T de macaco cangrejero.

18.3 Unión de Nanobodies anti-TCR a la proteína receptora de células T de macaco cangrejero (ELISA)

Se evaluó la unión de Nanobodies anti-TCR monovalentes purificados a la proteína TCR α/β de macaco cangrejero recombinante soluble, en ELISA (tal como se describe en el ejemplo 1.2) usando 2 μg/ml de proteína de cremallera-TCR-α/β de macaco cangrejero soluble recombinante recubierta directamente.

Los valores de CE50 obtenidos a partir de la curva dosis-respuesta se representan en la tabla C-19.

Se muestra un resultado a modo de ejemplo en la figura 22.

Tabla C-19: CE50 (M) de Nanobodies monovalentes anti-TCR para la unión a la proteína TCR/CD3 de macaco cangrejero recombinante soluble tal como se determina en ELISA.

Agrupación	ID de muestra	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
A	T0170055A02	1,6E-07	1,5E-07	1,7E-07
A	T0170056G05	7,7E-08	6,6E-08	9,1E-08
B	T0170068G05	8,7E-08	8,5E-08	8,9E-08
C	T0170061G01	> 1E7		

Los resultados indican que los Nanobodies anti-TCR de la agrupación A y la agrupación B se unen a la proteína de cremallera-TCR-α/β de macaco cangrejero soluble recombinante.

18.4 Evaluación de la reactividad cruzada del macaco cangrejero en la interferometría de biocapa

Se midieron las afinidades de unión de los Nanobodies monovalentes anti-TCR usando la interferometría de biocapa (BLI) en un instrumento Octet RED384 (Pall ForteBio Corp.) esencialmente tal como se describe en el ejemplo 7.1 usando cremallera α/β-TCR de macaco cangrejero. Se representan los resultados en la figura 23, las características de unión de los Nanobodies anti-TCR se enumeran en la tabla C-20.

Tabla C-20: Características de unión de Nanobodies anti-TCR monovalentes determinados en Octet usando proteína de cremallera-TCR de macaco recubierta directamente.

Agrupación	ID de muestra	kon (1/ms)	koff (1/s)	KD (M)
A	T0170055A02	1,1E + 05	2,4E-02	2,1E-07
A	T0170056G05	1,1E + 05	1,6E-02	1,5E-07

Los Nanobodies de la agrupación A se unen a la cremallera-TCR α/β de macaco cangrejero recombinante soluble con una afinidad 10 veces menor en comparación con la cremallera-TCR α/β humana recombinante soluble.

18.5 Caracterización funcional de polipéptidos multiespecíficos de semivida extendida en un ensayo de destrucción de tumor positivo para CD20 de Ramos mediado por células T de macaco cangrejero

De manera análoga a la configuración descrita en el ejemplo 18.1, se evaluaron los polipéptidos de unión a TCR de semivida extendida en un ensayo de destrucción de Ramos mediada por células T de macaco cangrejero.

Los valores de CI50 obtenidos en este ensayo se enumeran en la tabla C-21. Se muestran los resultados en la figura 24.

Tabla C-21: CI50 de y % de lisis por polipéptidos multiespecíficos con HLE en el ensayo de destrucción de células B (Ramos) dependiente de células T de macaco cangrejero para evaluar el efecto de HLE.

Agrupación	ID de muestra	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	% de lisis
A	T017000076	5,2E-10	2,9E-10	9,5E-10	29
A	T017000093	1,0E-09	5,5E-10	2,0E-09	28
A	T017000093 + HSA	8,2E-10	4,7E-10	1,4E-09	18

Los polipéptidos multiespecíficos de unión a TCR con extensión HLE que contienen un elemento estructural de unión a TCR que pertenece a la agrupación A mostraron destrucción dependiente de la dosis de las células de Ramos usando células T de macaco cangrejero primarias purificadas. La inclusión de ALB11 en el constructo como tal no tuvo impacto sobre la potencia (IC solapante). Tras la adición de HSA, se observó una pequeña disminución de la eficacia, mientras que la potencia no se vio afectada.

18.6 Caracterización funcional de polipéptidos multiespecíficos de unión CD20xTCR de semivida extendida en un ensayo de destrucción de células tumorales positivas para CHO-CD20 mediada por células T de macaco cangrejero

Para confirmar los datos en el ensayo basado en citometría de flujo, se sometieron a prueba los constructos con HLE en la destrucción de CD20 humano CHO-K1 basado en xCELLigence usando células T de macaco cangrejero primarias purificadas tal como se describe en el ejemplo 11.

Se muestran los resultados en la figura 25. Los valores de CI50 obtenidos a partir de la curva dosis-respuesta se representan en la tabla C-22.

Tabla C-22: CI50 (M) de los constructos multiespecíficos de unión a TCR/CD20 y con HLE en el ensayo de destrucción de tumor CD20 humano CHO-K1 mediada por células T de macaco cangrejero para evaluar el efecto de ALB11 y HSA.

ID de muestra	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
T017000076	1,4E-10	9,5E-11	2,1E-10
T017000093	1,9E-10	1,3E-10	2,8E-10
T017000093 + HSA	7,4E-10	5,0E-10	1,1E-09

Los polipéptidos multiespecíficos de unión a TCR con HLE mostraron destrucción dependiente de la dosis de células transfectadas con CD20 humano CHO-K1 usando células T de macaco cangrejero, lo que confirma que ALB11 no tiene impacto sobre la reactividad cruzada de macaco cangrejero del elemento estructural de unión a TCR.

18.7 Caracterización funcional de polipéptidos multiespecíficos en un ensayo de destrucción de células tumorales positivas para HER2 mediada por células T de macaco cangrejero

Los polipéptidos multiespecíficos se caracterizaron funcionalmente en un ensayo de destrucción de células tumorales positivas para HER2 mediada por células T de macaco cangrejero. En resumen, se evaluaron los polipéptidos multiespecíficos de unión a TCR/HER2 en un ensayo de destrucción basado en xCELLigence esencialmente tal como se describe en el ejemplo 16, usando $6x10^5$ células T de macaco cangrejero como células efectoras y $4x10^4$ SKBR3 como células diana (efector con respecto a diana de 30 a 1). Se analizaron los datos después de 18 h.

Se representan los resultados en la figura 26. Los valores de CI50 obtenidos en este ensayo se enumeran en la tabla C-23.

La reactividad cruzada del macaco cangrejero del elemento estructural de unión a TCR se confirmó usando los constructos multiespecíficos de unión a HER2/TCR.

Ejemplo 19 Prueba de concepto *in vivo* en un modelo de reducción de células B de Ramos

En este modelo de reducción de células B, se inyectaron células de Ramos (una línea celular de linfoma de Burkitt) y PBMC humanas, respectivamente, por vía intravenosa y por vía intraperitoneal a ratones NOG. Se evaluó la destrucción de células B de Ramos y de células B derivadas de PBMC mediante el reclutamiento mediado por Nanobodies de células T presentes en la población de PBMC que refleja el potencial de los polipéptidos multiespecíficos para activar las células T mediante el ligamiento directo de las células T a través de TCR a las células B diana a través de CD20, dando como resultado la destrucción de células diana.

Se evaluó la eficacia *in vivo* del polipéptido biespecífico T017000083 (unión CD20xTCR) en la reducción de células B en un modelo de ratón NOG Ramos y se comparó con el polipéptido multiespecífico irrelevante T017000088 (Nanobody irrelevante + de unión a TCR). El estudio demostró un efecto estadísticamente significativo en la médula ósea y el bazo en la reducción de células B de Ramos y en la reducción de células B derivadas de PBMC en el bazo.

Con detalle, se evaluó la reducción de las células B en ratones, a los que se les inyectó por vía intravenosa 10^6 células de Ramos en 200 µl de medio de Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 en el primer día (D1). Esta inyección tuvo lugar 24 horas después de la irradiación de cuerpo entero de los ratones con una fuente γ (1,44 Gy, 60Co) (D0). Se inyectaron 10^7 PBMC (500 µl en PBS) en D3 (es decir, dos días después de la inyección de células tumorales) después de la aleatorización de los ratones en grupos, cada uno de 24 animales. El tratamiento comenzó en D3 una hora después de la inyección de PBMC y se repitió durante 5 días consecutivos en total hasta D7 (figura 27). Se sometieron a prueba tres niveles de dosis de los polipéptidos de unión a TCR/CD20 (0,5 mg/kg, 5 mg/kg y 23 mg/kg).

En D20 o en D21, se sacrificaron ratones y se recogieron el bazo y la médula ósea (fémur) para análisis mediante FACS (mCD45, hCD45, hCD19, hCD20, hCD10) para analizar y cuantificar la presencia de células B de Ramos (hCD19+ hCD20+ hCD45+ mCD45- hCD10+) y células B derivadas de PBMC (hCD19+ hCD20+ hCD45+ mCD45- hCD10-).

Los resultados para la reducción de células B de Ramos se representan en la figura 28A y la figura 28B. Los ratones tratados con un polipéptido multiespecífico irrelevante se consideraron como grupo de control para los análisis. A partir de la figura 28A, se observó un patrón de dosis-respuesta en la médula ósea para T017000083 (CD20/TCR) frente al polipéptido multiespecífico irrelevante para reducir el número de células de Ramos. Los 2 niveles de dosis más altos para el polipéptido multiespecífico de unión a CD20/TCR fueron de manera estadísticamente significativa diferentes del polipéptido multiespecífico irrelevante. El análisis estadístico se ha realizado con pruebas F del análisis ANOVA de efectos mixtos. Para el bazo, todos los niveles de dosis sometidos a prueba de T017000083 fueron de manera estadísticamente significativa diferentes del polipéptido multiespecífico irrelevante, tal como se representa en la figura 28B. El patrón de dosis-respuesta en el bazo fue menos pronunciado ya que todas las dosis estaban cerca o se estimó que tenían el efecto máximo y, por tanto, eran muy similares.

Los resultados para la reducción de células B derivadas de PBMC se representan en la figura 28C y la figura 28D. En la médula ósea, se observó un patrón de dosis-respuesta para T017000083 tal como se representa en la figura 28C. La diferencia estimada en el número de células B humanas para T017000083 frente al polipéptido multiespecífico irrelevante para los 2 niveles de dosis más altos fue de manera estadísticamente significativa diferente al nivel de significación del 5%. En el bazo, los recuentos de células B fueron de manera estadísticamente significativa diferentes del grupo tratado con polipéptido multiespecífico irrelevante en todos los grupos tratados con T017000083, y esto en todos los niveles de dosis sometidos a prueba. El patrón de dosis-respuesta fue menos pronunciado ya que todas las dosis estaban cerca o se estimó que tenían el efecto máximo y, por tanto, eran muy similares, aunque se observó un aumento de la diferencia estimada con la dosis creciente.

En conclusión, estos resultados demuestran que los polipéptidos multiespecíficos CD20/TCR son capaces de disminuir significativamente las células B de Ramos y las células B derivadas de PBMC en el bazo y las células B de Ramos en la médula ósea en este modelo. Esto confirma la activación de células T inducida por polipéptidos mediante la reticulación de las células T con las células B diana y la destrucción de estas últimas.

Ejemplo 20 Prueba de concepto *in vivo* en un modelo de reducción de células B de PBMC

En este modelo de reducción de células B, se inyectaron PBMC humanas por vía intraperitoneal a ratones NOG. Se evaluó la destrucción de células B derivadas de PBMC mediante el reclutamiento de células T mediado por polipéptidos presentes en la población de PBMC, reflejando el potencial de los polipéptidos de la invención para activar las células T mediante el ligamiento directo de las células T a través de TCR a las células B diana a través de CD20, lo que da como resultado la destrucción de células diana.

Se evaluó la eficacia *in vivo* del polipéptido multiespecífico T017000083 (unión CD20xTCR) sobre la reducción de células B en un modelo de ratón NOG PBMC y se comparó con el polipéptido irrelevante T017000088. El estudio demostró un efecto claro sobre la reducción de las células B derivadas de PBMC en el bazo.

Con detalle, se evaluó la reducción de las células B en ratones, a los que se les inyectó por vía intraperitoneal $3x10^7$ PBMC en 500 μl de PBS en el día tres (D3) después de una irradiación de cuerpo entero de los ratones con una fuente γ (1,44 Gy, 60Co) (D0) y la aleatorización de los ratones en grupos, cada uno de 12 animales. El tratamiento comenzó en D3 una hora después de la inyección de PBMC y se repitió durante 5 días consecutivos, en total hasta el día 7 (D7) (figura 29). Se sometieron a prueba tres niveles de dosis del polipéptido de unión a CD20/TCR (0,5 mg/kg, 5 mg/kg y 23 mg/kg).

El día 18 (D18), se sacrificaron los ratones y se recogió el bazo para el análisis mediante FACS (mCD45, hCD45, hCD19, hCD20) para analizar y cuantificar la presencia de células B humanas derivadas de PBMC (hCD19+ hCD20+ hCD45+ mCD45-).

Los resultados para la reducción de células B derivadas de PBMC se representan en la figura 30. En el bazo, los recuentos de células B fueron claramente diferentes del grupo tratado con polipéptido irrelevante en todos los grupos tratados con T017000083 y esto en todos los niveles de dosis sometidos a prueba. El patrón de dosis-respuesta no es pronunciado ya que todas las dosis son cercanas o se estima que tienen el efecto máximo y, por tanto, son muy similares.

En conclusión, estos resultados demuestran que un polipéptido multiespecífico de unión a CD20/TCR es capaz de disminuir significativamente las células B derivadas de PBMC en el bazo en este modelo. Esto confirma la activación de células T inducida por polipéptidos mediante la reticulación de las células T con las células B diana y la destrucción de estas últimas.

Ejemplo 21: Selección como diana de células tumorales con polipéptidos de compromiso de células T multiespecíficos

La actividad terapéutica de la estrategia de compromiso de células T puede mejorarse mediante la selección como diana simultánea de múltiples antígenos asociados a tumores. A menudo, las células tumorales crean un mecanismo de escape mediante la regulación por disminución de antígenos seleccionados como diana dentro de una terapia. Es probable que la selección como diana simultánea de múltiples antígenos reduzca la probabilidad de generar variantes de escape tumoral. La afinidad individual de los Nanobodies que seleccionan como diana el tumor respectivo puede variarse de tal manera que se logre o bien la unión preferible a un marcador único o bien la unión simultánea a ambos marcadores tumorales. Los antígenos presentes en diferentes poblaciones celulares pueden combinarse o incluso las proteínas solubles pueden seleccionarse como diana en combinación con un antígeno asociado a tumores.

Como la plataforma de Nanobody es ideal para combinar diferentes especificidades en un formato multiespecífico, los Nanobodies anti-TCR de la invención se combinan en formatos que ilustran estos conceptos, es decir, con diferentes Nanobodies de unión a antígeno tumoral en un polipéptido multiespecífico.

Para el concepto de selecciona como diana de antígeno tumoral doble, un Nanobody reactivo hacia un primer antígeno tumoral (TA1, por ejemplo, CEA) se liga a un segundo Nanobody con diferente especificidad (TA2, por ejemplo, EGFR), diferente de TA1, en combinación con un Nanobody reactivo para TCR. El orden específico de los elementos estructurales se varía dentro del formato, así como las longitudes de ligador aplicadas entre los diferentes elementos estructurales. Las combinaciones de TA1 y TA2 que se someten a prueba se representan en la tabla C-24.

Tabla C-24: Combinación de elementos estructurales de unión a TCR, TA1, TA2 y Alb en polipéptidos multiespecíficos.

ISV de células T	ISV de TA1	ISV de TA2	ALB-ISV
TCR	CEA	Irr	+
TCR	CEA	Irr	-
TCR	CEA	EGFR	+
TCR	CEA	EGFR	-
TCR	Irr	EGFR	+
TCR	Irr	EGFR	-

Para someter a prueba la extensión de la semivida, también se incluye un Nanobody Alb en los polipéptidos tal como se expone en la tabla C-24.

Para demostrar la destrucción específica, se usa un sistema de ensayo de cultivo de células mixtas en el que se incuban conjuntamente células tumorales positivas de manera única para TA1 (por ejemplo, MC38-huCEA o MKN45) y positivas de manera única para TA2 (por ejemplo, Hela o Her14). El nivel de expresión de los respectivos antígenos tumorales se determinó en diferentes líneas celulares y se representa en la figura 31. Tras la adición de los polipéptidos de la invención, células T humanas primarias y albúmina, si es necesario, se monitoriza la citotoxicidad mediada por células T basándose en una lectura de citometría. Se realiza una comparación con respecto a las células doblemente negativas o formatos que contienen uno o más Nanobodies irrelevantes.

Para verificar la destrucción específica, se compara la destrucción inducida de células tumorales doblemente positivas (para TA1 y TA2, por ejemplo, LS174T o LoVo) con la destrucción inducida de células tumorales positivas de manera única. Para esto, se usa un ensayo de citotoxicidad mediada por células T tal como se describió anteriormente con un único tipo de células tumorales positivas para ambos marcadores (véase el ejemplo 19).

Ejemplo 22: Selección como diana de células tumorales con polipéptidos multiespecíficos de compromiso a células T

Tal como se mencionó anteriormente, la actividad terapéutica de la estrategia de compromiso de células T puede mejorarse mediante la selección como diana simultánea de múltiples antígenos asociados a tumores. Las células tumorales no sólo crean un mecanismo de escape mediante la regulación por disminución de antígenos seleccionados como diana dentro de una terapia, sino también mediante la introducción de mutaciones (puntuales). También en este caso, es probable que la selección como diana simultánea de múltiples epítopos en un antígeno reduzca la probabilidad de generación de variantes de escape tumoral. Además, seleccionar como diana múltiples epítopos en un único antígeno puede aumentar la afinidad de unión (efecto de avidez).

Como la plataforma de Nanobody es ideal para combinar diferentes especificidades en un formato multivalente, los Nanobodies anti-TCR de la invención se combinan en formatos que ilustran estos conceptos, es decir, con diferentes Nanobodies de unión a antígeno tumoral en un polipéptido multiespecífico.

Para el concepto de selección como diana de antígeno tumoral multivalente, se ligan dos Nanobodies reactivos hacia un antígeno (TA1 y TA2, respectivamente), seguidos de un Nanobody reactivo para TCR. El orden específico de los elementos estructurales se varía dentro del formato, así como las longitudes de ligador aplicadas entre los diferentes elementos estructurales. Las combinaciones de TA1 y TA2 que se someten a prueba se representan en la tabla C-25.

Tabla C-25: Combinación de elementos estructurales de unión a TCR, TA1, TA2 y Alb en polipéptidos multiespecíficos.

ISV de células T	ISV de TA1	ISV de TA2	ALB-ISV
TCR	EGFR-1 (7D12)	EGFR-2 (9G08)	+
TCR	EGFR-1 (7D12)	EGFR-2 (9G08)	-
TCR	Her2-1 (5F07)	Her2-2 (47D05)	+
TCR	Her2-1 (5F07)	Her2-2 (47D05)	-

Para someter a prueba la extensión de la semivida, también se incluye un Nanobody que se une a albúmina en los polipéptidos tal como se expone en la tabla C-25.

La potencia y eficacia de estos formatos multivalentes se evalúa y compara con los respectivos formatos biespecíficos en un ensayo de destrucción de células tumorales *in vitro* comparable al ensayo descrito en el ejemplo 10 pero con las líneas celulares relevantes (por ejemplo, Hela, Her14, Ls174T, SKBR3, MCF7) Además, la razón efector-diana se varía de tal manera que se haga una estimación de si un polipéptido multivalente/multiespecífico tiene una mayor eficacia con menores razones efector-diana.

Ejemplo 23: Unión de Nanobodies monovalentes y polipéptidos multiespecíficos a células en citometría de flujo

Tal como se describió anteriormente, la actividad terapéutica de la estrategia de compromiso de células T puede mejorarse mediante la selección como diana simultánea de múltiples antígenos asociados a tumores, ya que las células tumorales a menudo crean un mecanismo de escape mediante la regulación por disminución de antígenos seleccionados como diana dentro de una terapia. Es probable que la selección como diana simultánea de múltiples antígenos reduzca la generación de variantes de escape tumoral.

Para este concepto de selección como diana de antígeno tumoral doble, un Nanobody reactivo hacia un primer antígeno tumoral (EGFR) se ligó a un segundo Nanobody con diferente especificidad (CEACAM5), en combinación

con un Nanobody reactivo para TCR. El orden específico de los elementos estructurales se varió dentro del formato. Los Nanobodies efectores y tumorales se ligaron genéticamente con el ligador 35GS y posteriormente se expresaron en la levadura *Pichia* según los protocolos convencionales. Se generaron constructos irrelevantes reemplazando el Nanobody tumoral por un Nanobody anti-lisozima de huevo irrelevante (cAblys) (tabla C-26).

Tabla C-26: ID de muestra y descripción de polipéptidos multiespecíficos.

ID de muestra	SEQ ID NO	TAA1	TAA2	ISV de células T	Descripción
T017000107	390	EGFR	CEACA M5	TCR	EGFR038G07-35GS-NbCEA5-35GS-T0170056G05-FLAG3-HIS6
T017000109	391	Irrelevante	CEACA M5	TCR	cAbLys3 (D1E, Q5V, A6E, Q108L) -35GS-NbCEA5-35GS-T0170056G05-FLAG3-HIS6
T017000110	392	EGFR	Irr	TCR	EGFR038G07-35GS-cAbLys3 (D1E, Q5V, A6E, Q108L) -35GS-T0170056G05-F-LAG3-H IS6

Se evaluó la unión dependiente de la dosis de los Nanobodies monovalentes y polipéptidos multiespecíficos a líneas celulares de cáncer que expresan CEACAM5 y EGFR (LoVo; ATCC CCL-229 y LS174T; ECACC 87060401), una línea celular que expresa EGFR (HER14; NIH3T3 (ATCC CRL-1658) transfectada con EGFR) y a células T humanas primarias purificadas (aisladas tal como se describe en el ejemplo 2.1) en citometría de flujo tal como se describe en el ejemplo 5. Se presentan los resultados en la figura 32.

Se determinó el nivel de expresión de los antígenos tumorales respectivos en las diferentes células en citometría de flujo usando 100 nM de un Nanobody anti-EGFR monovalente (EGFR038G07) y un Nanobody anti-CEA monovalente, tal como se describe en el ejemplo 5. Se muestran los resultados en la figura 33.

Los valores de CE50 obtenidos a partir de la curva dosis-respuesta para la unión a células HER14 se representan en la tabla C-27. Los valores de CE50 obtenidos a partir de la curva dosis-respuesta para la unión a las células LS174T y LoVo se representan en la tabla C-28.

Tabla C-27: CE50 (M) de Nanobodies monovalentes y polipéptidos multiespecíficos para la unión a células HER14 tal como se determina en citometría de flujo.

	HER14			
ID de muestra	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	Valor superior
T017000107	1,6E-09	1,4E-09	1,9E-09	146111
T017000109	/	/	/	/
T017000110	7,3E-09	6,4E-09	8,3E-09	164582
EGFR038G07	1,8E-09	1,6E-09	2,1E-09	166237
NbCEA5	/	/	/	

Tabla C-28: CE50 (M) de Nanobodies monovalentes y polipéptidos multiespecíficos para la unión a células LoVo y LS174T tal como se determina en citometría de flujo.

	LS174T				LoVo			
ID de muestra	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	Valor superior	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	Valor superior
T017000107	1,1E-08	9,7E-09	1,3E-08	64605	3,2E-09	2,7E-09	3,7E-09	88604
T017000109	2,5E-08	2,2E-08	2,9E-08	50982	3,6E-08	1,4E-08	9,1E-08	18514
T017000110	6,3E-09	5,5E-09	7,2E-09	40779	2,4E-09	2,1E-09	2,8E-09	95866
EGFR038G07	9,3E-10	8,1E-10	1,1E-09	32191	5,4E-10	4,8E-10	6,2E-10	52268
NbCEA5	5,9E-10	5,3E-10	6,6E-10	42978	1,2E-09	6,4E-10	2,4E-09	11238

Los datos mostraron la unión del Nanobody monovalente EGFR y de los polipéptidos multiespecíficos que contienen

el elemento estructural EGFR a las células HER14, que expresan sólo EGFR. No se observó unión del Nanobody monovalente CEACAM y los polipéptidos multiespecíficos que contienen sólo el elemento estructural de anclaje tumoral CEACAM5. Todos los polipéptidos monovalentes y multiespecíficos mostraron unión a las líneas celulares doblemente positivas para EGFR, CEACAM5, LS174T y LoVo, tal como se esperaba. También hubo unión de los polipéptidos multiespecíficos a las células T humanas primarias. Se observó una disminución de la afinidad de los polipéptidos multiespecíficos frente al elemento estructural de TCR monovalente debido a la posición C-terminal del elemento estructural de TCR.

Ejemplo 24: Unión de Nanobodies monovalentes a proteína CEACAM5 y EGFR humano (SPR)

Se evaluó la afinidad de unión del Nanobody monovalente EGFR purificado mediante una determinación de afinidad basada en resonancia de plasmón superficial (SPR) en un instrumento Biacore T100. A esto, se inmovilizó hEGFR (Sino Biological, #10001-H08H) sobre un chip CM5 mediante acoplamiento de amina, usando química de EDC y NHS. Se inyectaron Nanobodies purificados durante 2 min a diferentes concentraciones (entre 1,37 y 3000 nM) y se permitieron disociar durante 15 min a una velocidad de flujo de 45 µl/min. Entre las inyecciones de muestra, se regeneraron las superficies con NaOH 50 mM. Se usó HBS-EP+ (tampón Hepes pH 7,4) como tampón de ejecución.

Se evaluaron las afinidades de unión del Nanobody monovalente CEACAM5 purificado por medio de una determinación de afinidad basada en SPR en un instrumento Biacore T100. A esto, se inmovilizó hCEACAM-5 (R&D Systems, #4128-CM) sobre un chip CM5 mediante acoplamiento de amina, usando química de EDC y NHS.

Se inyectaron Nanobodies purificados durante 2 min a diferentes concentraciones (entre 0,31 y 2000 nM) y se permitieron disociar durante 15 min a una velocidad de flujo de 45 µl/min. Entre las inyecciones de muestra, se regeneraron las superficies con glicina 10 mM a pH 1,5. Se usó HBS-EP+ (tampón Hepes pH 7,4) como tampón de ejecución.

Se calcularon las constantes cinéticas a partir de los sensogramas usando el software BIAEvaluation (interacción 1:1). Se calcularon las constantes de afinidad (KD) a partir de las constantes de velocidad de asociación y disociación resultantes kon y koff, y se muestran en la tabla C-29.

Tabla C-29: Constante de afinidad de Nanobodies monovalentes para la unión de hEGFR y hCEACAM5, determinada en Biacore usando proteínas recubiertas directamente.

	hCEACAM5			hEGFR ECD		
	kon (1/ms)	Koff (1/s)	KD (M)	kon (1/ms)	koff (1/s)	KD (M)
EGFR038G07	/	/	/	5,58E + 05	4,26E-04	7,63E-10
NbCEA5	9,9E + 05	5,1E-04	5,1E-10	/	/	/

Ejemplo 25: Destrucción celular redirigida de polipéptidos multiespecíficos por células T efectoras humanas en el ensayo basado en xCELLigence

Los polipéptidos multiespecíficos se caracterizaron funcionalmente en un ensayo de destrucción de células tumorales positivas para EGFR/CEACAM mediada por células T humanas. En resumen, se evaluaron los constructos multiespecíficos en un ensayo de destrucción basado en xCELLigence esencialmente tal como se describe en el ejemplo 16, usando $6x10^5$ células T humanas como células efectoras y $4x10^4$ células LS174T (ECACC 87060401) o células LoVo (ATCC CCL-229), respectivamente, como células diana (efector con respecto a diana de 15 a 1). Se analizaron los datos después de 30-40 h y después de 50-60 h.

Se representan los resultados en la figura 34. Los valores de CI50 obtenidos en este ensayo se enumeran en las Tablas 30 y 31.

Tabla 30: CI50 (M) de los polipéptidos multiespecíficos en el ensayo de destrucción basado en xCELLigence mediada por células T humanas usando una razón de efector con respecto a diana de 15. Se analizaron los datos después de 30-40 h.

	LoVo				LS174T			
ID de constructo	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
T017000107	1	3,0E-10	2,6E-10	3,6E-10	1	1,0E-08	6,1E-09	1,7E-08
T017000109	1	9,3E-09	6,7E-09	1,3E-08	1	1,0E-07	4,9E-08	2,2E-07

	LoVo				LS174T			
ID de constructo	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
T017000110	1	1,5E-09	1,3E-09	1,9E-09	1	2,6E-08	1,1E-08	6,0E-08

Los datos sobre las células LoVo EGFR+/CEA+ mostraron una diferencia de 28 veces en la potencia entre CEACAM5 solamente y los constructos multiespecíficos EGFR-CEA y una diferencia de 8 veces en la potencia entre los constructos de EGFR sólo y los constructos multiespecíficos EGFR-CEA. En las células LS174T EGFR+/CEA+, se observó una diferencia de 7 veces en la potencia entre la CEACAM5 solamente y los constructos multiespecíficos EGFR-CEA y una diferencia doble entre los constructos de EGFR sólo y los constructos multiespecíficos EGFR-CEA. Estos resultados mostraron que se obtuvieron mejoras de potencia con constructos multiespecíficos reactivos frente a dos antígenos diferentes presentes en una célula.

Ejemplo 26: Reducción de células B *in vivo* por polipéptidos con semivida extendida (HLE) en un modelo de reducción de células B de Ramos

En este modelo de reducción de células B, se inyectaron células de Ramos de linfoma de Burkitt y PBMC humanas, respectivamente, por vía intravenosa y por vía intraperitoneal a ratones, después de lo cual se evaluó la destrucción de células B de Ramos y células B derivadas de PBMC mediante el reclutamiento mediado por Nanobodies de células T presentes en la población de PBMC: es decir, el potencial de Nanobodies, con HLE y sin HLE (NHLE), para activar las células T mediante el ligamiento directo de las células T a través de TCR a las células B diana a través de CD20, lo que da como resultado la destrucción de las células diana.

Los polipéptidos usados en este estudio se describen en la tabla 32:

Tabla 32: ID de muestra y descripción de polipéptidos multiespecíficos usados en el estudio *in vivo*.

ID de muestra	SEQ ID NO	TAA	ISV de TCR	HLE	Descripción
T017000083	338	CD20	TCR	NHLE	20CD019C07 (E1D) -35GS-T0170055A02-A
T017000088	339	Irr	TCR	NHLE	RSV007B02 (E1D) -35GS-T0170055A02-A
T017000104	387	CD20	TCR	HLE	20CD019C07 (E1D) -35GS-T0170055A02-35GS-ALB11-A
T017000105	388	CD20	TCR	NHLE	20CD019C07 (E1D) -35GS-T0170056G05-A
T017000106	389	Irr	TCR	HLE	RSV007B02 (E1D) -35GS-T0170055A02-35GS-ALB11-A

Se evaluó la eficacia *in vivo* de un Nanobody biespecífico con HLE, T017000104 (específico de TCR y CD20 acoplado a un elemento estructural de selección como diana de albúmina) en un modelo de ratón NOG Ramos y se comparó con el Nanobody irrelevante T017000106. El Nanobody sin semivida extendida (NHLE) T017000105 (específico para TCR y CD20) y T0107000083 (específico para TCR y CD20) se compararon con el Nanobody irrelevante NHLE T017000088 (irrelevante y específico para TCR). El estudio demostró un efecto estadísticamente significativo en la médula ósea y el bazo sobre la reducción de las células B derivadas de PBMC para T017000104 y T017000105 en comparación con sus NB de control irrelevantes respectivos. Las células de Ramos se redujeron significativamente en ratones tratados con T017000104 y T017000105, tanto en bazo como en médula ósea.

Con detalle, se evaluó la reducción de las células B en los ratones, a los que se les inyectó por vía intravenosa células de Ramos el primer día (D1) y por vía intraperitoneal PBMC en D3. Se trataron los ratones de D3 a D7 (figura 35).

Se indujeron tumores mediante inyección intravenosa de 10^6 células de Ramos en 200 µl de medio de Roswell Park Memorial Institute (RPMI) 1640 (D1) 24 horas después de una irradiación de cuerpo entero de los ratones con una fuente γ (1,44 Gy, 60Co) (D0). Se inyectaron PBMC en D3 (es decir, dos días después de la inyección de células tumorales) después de la aleatorización de los ratones en grupos, cada uno de 12 animales (11 animales para el grupo 6) en función del peso corporal. Los animales recibieron una sola inyección intraperitoneal (i.p.) de 10^7 PBMC (500 µl en PBS). El tratamiento comenzó en D3 una hora después de la inyección de PBMC y se repitió durante 5 días consecutivos en total para los grupos 1-4 y 6, mientras que el grupo 5 recibió sólo dos inyecciones (D3 y D5).

En D20 o en D21, se sacrificaron los ratones y se recogieron el bazo y la médula ósea (fémur) para análisis mediante FACS (mCD45, hCD45, hCD19, hCD20, hCD10) y se analizaron para detectar la presencia de células B de Ramos y células B derivadas de PBMC.

Los resultados para la reducción de células B de Ramos se representan en la figura 36. Los artículos de prueba

T017000083 y T017000105 y T017000104 se compararon con sus respectivos grupos de control (grupos 1 y 2) basándose en la presencia/ausencia de HLE. En la médula ósea, se observó una diferencia estadísticamente significativa en el número de células B de Ramos entre los Nanobodies de control y los Nanobodies NHLE T017000083 y T017000105 (figura 36A). En el bazo, la diferencia fue significativa sólo para T017000105 (figura 36B). El Nanobody HLE T017000104 redujo significativamente las células de Ramos en el bazo y la médula ósea independientemente de la frecuencia de dosificación aplicada (figuras 36A y B). El análisis estadístico se ha realizado con pruebas F del análisis ANOVA de efectos mixtos.

Los resultados para la reducción de células B derivadas de PBMC se representan en la figura 37. En la médula ósea, se observó una reducción del recuento absoluto de células B en todos los grupos de tratamiento, en comparación con el Nanobody de control irrelevante y este efecto fue significativo para los Nanobodies T017000083 y T017000104 (figura 37A). En el bazo, el efecto fue más pronunciado y significativo para todos los grupos de tratamiento (figura 37B).

En conclusión, estos resultados demuestran que tanto el polipéptido anti-CD20/anti-TCR como el polipéptido con HLE anti-CD20/anti-TCR son capaces de disminuir significativamente las células B de Ramos y las células B derivadas de PBMC en el bazo y la médula ósea en este modelo de reducción de células B. Esto confirma la activación de células T inducida por Nanobodies mediante la reticulación de las células T con las células B diana y la destrucción de estas últimas.

Ejemplo 27: Papel de las células T efectoras humanas CD4+ y CD8+ en la activación de células T

Para investigar el papel de las células T humanas CD4+, respectivamente CD8+, en la destrucción redirigida, se realizó la selección como diana de las células tumorales con polipéptidos multiespecíficos con compromiso de células T usando subconjuntos de células T. En este caso, se usaron la línea celular positiva para HER2 SKBR3 y el Nanobody T017000102 (que selecciona como diana HER2 y TCR).

27.1 Destrucción celular redirigida de polipéptidos multiespecíficos por células T CD4+ y CD8+ efectoras humanas en el ensayo basado en xCELLigence

Se recogieron células T humanas tal como se describe en el ejemplo 2.1. Después de descongelarse, se aislaron células T CD4+ humanas, respectivamente CD8+ usando el kit de aislamiento de células T CD4+ (Miltenyi Biotec #130-096-533), respectivamente CD8+ (Miltenyi Biotech #130-096-495). Se sembraron células SKBR3 en placas E-plate de 96 pocillos ($2x10^4$ células/pocillo) y se incubaron con $3x10^5$ células T efectoras humanas primarias, células T efectoras humanas primarias CD4+ o células T efectoras humanas primarias CD8+ (razón efector-diana de 15:1) en presencia o ausencia de constructos multiespecíficos y se siguieron a lo largo del tiempo, tal como se describe en el ejemplo 16. Se analizaron los datos después de 40 h.

Se muestran los resultados en la figura 38. Los valores de CI50 se representan en la tabla 33.

Tabla 33: CI50 (M) de los polipéptidos multiespecíficos en el ensayo de destrucción de SKBR3 mediada por células T humanas basado en xCELLigence usando una razón de efector con respecto a diana de 15 a 1.

	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
Células T	2,4E-11	1,9E-11	3,0E-11
Células T CD8+	2,9E-11	2,1E-11	4,1E-11
Células T CD4+	1,2E-11	1,1E-11	1,3E-11

Los datos mostraron la destrucción específica dependiente de la dosis de líneas celulares tumorales positivas para HER2 dirigiendo células T humanas primarias, células T CD4+ humanas o CD8+ humanas a las células tumorales a través del polipéptido de TCR.

27.2 Efecto de polipéptidos de unión a HER2/TCR sobre la expresión de CD69 y CD25 en células T CD4+ y CD8+ efectoras humanas en un ensayo de destrucción de células tumorales positivas para HER2

Se aislaron células T humanas primarias y las subpoblaciones de células T CD4+ y CD8+ y se realizó un ensayo de destrucción de células tumorales positivas para HER2 redirigidas usando células SKBR3 tal como se describe en el ejemplo 27.1. Se determinó la activación de células T midiendo la regulación por incremento de CD69 y CD25 después de 24 h y 72 h de incubación, respectivamente, en las células T humanas primarias y en las poblaciones de células T humanas CD4+ y CD8+. Se midió la expresión de CD69 y CD25 en citometría de flujo, usando anticuerpo de ratón monoclonal anti-CD69PE humano (BD Biosciences #557050) y anticuerpo de ratón anti-CD25PE humano (BD Pharmigen #557138), para la medición de CD69 y CD25 respectivamente.

Se muestran resultados a modo de ejemplo en la figura 39.

Los datos mostraron una regulación por incremento de CD69 y CD25 dependiente de la dosis en células T humanas primarias, células T CD4+ humanas y CD8+ humanas.

27.3 Efecto de polipéptidos de unión a HER2/TCR sobre la liberación de IFN-γ e IL-6 por células T efectoras humanas CD4+ y CD8+ en un ensayo de destrucción de células tumorales positivas para HER2

Se aislaron las células T humanas primarias y subpoblaciones de células T CD4+ y CD8+ y se realizó un ensayo de destrucción de células tumorales positivas para HER2 redirigidas usando células SKBR3 tal como se describe en el ejemplo 27.1. La liberación de la citocina IFN-γ se midió mediante ELISA tal como se describe en el ejemplo 17 y la liberación de IL-6 se midió en ELISA usando el kit de ELISA Quantikine para IL-6 humana (R&D Systems, #D6050) según las instrucciones del fabricante.

Se muestran resultados a modo de ejemplo en la figura 40.

Los datos mostraron liberación de IFN-γ e IL-6 dependiente de la dosis por las células T humanas primarias, las células T CD4+ humanas y las células T CD8+ humanas.

Ejemplo 28: Exploración de la extensión de la semivida (HLE)

Se planteó la hipótesis de que HLE a través de la unión de albúmina podría ser adecuada para cumplir con diversos requisitos, incluyendo (i) extensión de semivida (HLE) del resto; y (ii) eficacia del polipéptido multiespecífico. Preferiblemente, la función HLE no perjudicaría la penetración de tumores y tejidos.

Se ligó Alb11 (SEQ ID NO: 404), un Nanobody de unión a albúmina sérica humana (HSA) con el polipéptido de unión EGFRxCEAxTCR multiespecífico para aumentar la semivida *in vivo* de la molécula formateada (documento WO 06/122787) Se generó un formato con el Nanobody que selecciona como diana albúmina en el extremo C-terminal usando un ligador 35GS y se expresó tal como se indicó anteriormente. El formato explorado se muestra en la tabla 34.

Tabla 34: ID de muestra y descripción del polipéptido con HLE multiespecífico.

ID de muestra	SEQ ID NO	Descripción
T017000108	486	EGFR038G07-35GS-NbCEA5-35GS-T0170056G05-35GS-ALB11-FLAG3-HIS6

Como la adición del Nanobody Alb11 podría influir en la afinidad o potencia del constructo, el polipéptido multiespecífico de semivida extendida se caracterizó para la unión a líneas celulares que expresan EGFR y CEA y células T humanas primarias. Además, se evaluó la potencia en el ensayo de destrucción de LS174T dependiente de células T funcionales (descrito en 28.1 y 28.2 a continuación).

28.1 Impacto del elemento estructural Alb11 sobre las propiedades de unión

Se evaluó la unión dependiente de la dosis del polipéptido multiespecífico HLE a líneas celulares cancerosas que expresan CEACAM5 y EGFR (LS174T y LoVo), una línea celular que expresa EGFR (HER14; NIH3T3 transfectada con EGFR), y a células T humanas primarias purificadas (aisladas tal como se describe en el ejemplo 2.1) en citometría de flujo tal como se describe en el ejemplo 5, en ausencia de HSA.

Se presentan los resultados en la figura 41. El valor de CE50 obtenido a partir de la curva dosis-respuesta para la unión a células HER14 se muestra en la tabla 35. Los valores de CE50 obtenidos a partir de las curvas de dosis-respuesta para la unión a células LS174T y LoVo se muestran en la tabla 36.

Tabla 35: CE50 (M) de T017000108 para la unión a células HER14 tal como se determina en citometría de flujo.

	HER14			
ID de muestra	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	Valor superior
T017000108	1,9E-09	1,7E-09	2,2E-09	158884

Tabla 36: CE50 (M) de T017000108 para la unión a LoVo y LS174T tal como se determina en citometría de flujo.

	LS174T				LoVo			
ID de muestra	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	Valor superior	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	Valor superior
T017000108	1,4E-08	1,2E-08	1,6E-08	70202	3,3E-09	2,9E-09	3,9E-09	92787

La comparación del constructo con HLE con el constructo sin HLE mostró una unión similar a las tres líneas celulares sometidas a prueba. Los datos presentados mostraron que el acoplamiento del elemento estructural Alb11 no influyó en las propiedades de unión.

28.2 Impacto del Nanobody Alb11 sobre la destrucción celular redirigida por células T efectoras humanas en el ensayo basado en xCELLigence

Se evaluó la funcionalidad del polipéptido multiespecífico de semivida extendida en ausencia de HSA en el ensayo de destrucción de LS174T mediada por células T humanas tal como se describe en el ejemplo 10 y se comparó con la funcionalidad de los constructos multiespecíficos sin HLE.

Se representan los resultados en la figura 42. Los valores de CI50 obtenidos se enumeran en la tabla 37.

Tabla 37: CI50 (M) de los polipéptidos multiespecíficos en el ensayo de destrucción basado en xCELLigence mediada por células T humanas usando una razón de efector con respecto a diana de 15. Se analizaron los datos después de 40-50 h.

ID de muestra	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
T017000107	7,9E-10	5,9E-10	1,1E-09
T017000108	5,5E-09	4,1E-09	7,3E-09

Los resultados indican que la inclusión de la Nanobody que selecciona como diana albúmina en el constructo como tal no tuvo un impacto esencial sobre la potencia o eficacia obtenida.

TABLAS

Tabla A-1: Alineación de secuencias de agentes de unión de agrupación A de TCR - parte 1

	n.º de Kabat	1	10	20	30	40	50	60	70	78
SEQ ID NO: 50	T0170PMP056G05	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMV
SEQ ID NO: 8	T0170PMP053D01	.....K...A...A.....T.E....M..T.T...DV.....A....
SEQ ID NO: 60	T0170PMP067D01	.....K...A...A.....T.E....M..T.T...EV.....A....
SEQ ID NO: 47	T0170PMP056F01	.....K.P.A...A.....T.E....M..T.T...EV.....A....
SEQ ID NO: 76	T0170PMP069A06	.....K...A...A.....T.E....M..T.T...EV..E.....A....
SEQ ID NO: 65	T0170PMP067F02	.....K...A...A.....T.E....M..T.T...EV...H.....A....
SEQ ID NO: 66	T0170PMP068C03	.....K...A...A.....T.E....M..T.T...EVA.....A....
SEQ ID NO: 26	T0170PMP055E05	.....K...A...A.....E....M..T.T...EV.....A....
SEQ ID NO: 19	T0170PMP055C02	.....K...A...A.....T.E....M....T...EV.....A....
SEQ ID NO: 61	T0170PMP067D06	.....K...A...A.....E....M..T.T...EV.....AT...
SEQ ID NO: 50	T0170PMP069C08	.....
SEQ ID NO: 28	T0170PMP055F03	.....I.....S.....E.....
SEQ ID NO: 54	T0170PMP061A02	.....I.....A.S.....E.....
SEQ ID NO: 45	T0170PMP056D11	.....I.....R...S.....E.....
SEQ ID NO: 77	T0170PMP069B02	.....R.....I.....S.....E.....
SEQ ID NO: 96	T0170PMP070G02	.....I.....S.....E.....
SEQ ID NO: 2	T0170PMP028B01	.....A...S.....GL..T.T...T.....Y.....AR...
SEQ ID NO: 4	T0170PMP028G06	.....A...S.....L..T.T...T.....Y.....AR...
SEQ ID NO: 29	T0170PMP055F06	.....A...S.....L..T.T...A.....Y.....AR...
SEQ ID NO: 1	T0170PMP027A05	.....A...S.....L..T.T...T.....A....
SEQ ID NO: 6	T0170PMP040C01	.....A...S.....L..T.T...T.....A....
SEQ ID NO: 3	T0170PMP028F10	.....R....P.A...S.....M..T.T...A.....A....
SEQ ID NO: 5	T0170PMP029F08	.....A...S.....M..T.T...A.....A....
SEQ ID NO: 13	T0170PMP055A08	.....S.....A...S.....M..T.T...A.....A....
SEQ ID NO: 32	T0170PMP055G09	.....S.....A...S.....V..T.T...A.....A....
SEQ ID NO: 69	T0170PMP068D05	.....S.....P..A...S.....M..T.T...A.....A....
SEQ ID NO: 75	T0170PMP068F08	.....S.....A...S.....GM..T.T...A.....A....
SEQ ID NO: 95	T0170PMP070F11	.....S.....A...S.....C.....M..T.T...A.....A....
SEQ ID NO: 87	T0170PMP069E11	.....A...E.....I.....C.....DM..T.T...A.....A....
SEQ ID NO: 99	T0170PMP084B07	.....A...E.....I.....DM..T.T...E.Q.....A....
SEQ ID NO: 10	T0170PMP055A01	.....R.....A.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 11	T0170PMP055A02	.....A.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 22	T0170PMP055D03	.....A.....I.....A....M....T...A.N.....A....
SEQ ID NO: 24	T0170PMP055D10	.....A.....I.....A....M....T...A....G.....A....

Tabla A-2: Alineación de secuencias de agentes de unión de agrupación A de TCR - parte 1 continuada

			79	90	100	110
	n.º de Kabat	:	| ab	|	|a	|
SEQ ID NO: 50	T0170PMP056G05	:	YLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSS			
SEQ ID NO: 8	T0170PMP053D01	:	....T.....V...G..L...N.....			
SEQ ID NO: 60	T0170PMP067D01	:	....T.....V...G..L...N.....			
SEQ ID NO: 47	T0170PMP056F01	:	....T.....V...G..L...N.....			
SEQ ID NO: 76	T0170PMP069A06	:	....TG.....V...G..L...N.....			
SEQ ID NO: 65	T0170PMP067F02	:	....T.....V...G..L...N......Q.....			
SEQ ID NO: 66	T0170PMP068C03	:	....T.....V...G..L...N......Q.....			
SEQ ID NO: 26	T0170PMP055E05	:	....T.......T..V...G..L...N......Q.....			
SEQ ID NO: 19	T0170PMP055C02	:	....T..T.......V...G..L...N......Q.....			
SEQ ID NO: 61	T0170PMP067D06	:	....T.....G.....N......Q.....			
SEQ ID NO: 50	T0170PMP069C08	:	.....			
SEQ ID NO: 28	T0170PMP055F03	:	.....L.....			
SEQ ID NO: 54	T0170PMP061A02	:	.....L.....			
SEQ ID NO: 45	T0170PMP056D11	:	.....L.....			
SEQ ID NO: 77	T0170PMP069B02	:	.....L.....Q.....			
SEQ ID NO: 96	T0170PMP070G02	:	.....A...L.....Q.....			
SEQ ID NO: 2	T0170PMP028B01	:	.....G..L...N......Q.....			
SEQ ID NO: 4	T0170PMP028G06	:	.....G..L...N.....			
SEQ ID NO: 29	T0170PMP055F06	:	.....G..L...N.....			
SEQ ID NO: 1	T0170PMP027A05	:	.....H....G..L...N......Q.....			
SEQ ID NO: 6	T0170PMP040C01	:	.....G..L...N......Q.....			
SEQ ID NO: 3	T0170PMP028F10	:	.....G..L...N......Q.....			
SEQ ID NO: 5	T0170PMP029F08	:	.....G..L...N.....			
SEQ ID NO: 13	T0170PMP055A08	:	.....S.....G..L...N.....			
SEQ ID NO: 32	T0170PMP055G09	:	.....S.....G..L...N......Q.....			
SEQ ID NO: 69	T0170PMP068D05	:	.....S.....G..L...N......Q.....			
SEQ ID NO: 75	T0170PMP068F08	:	.....S.....G..L...N......Q.....			
SEQ ID NO: 95	T0170PMP070F11	:	.....S.....G..L...N......Q.....			
SEQ ID NO: 87	T0170PMP069E11	:	.....L..L...N.....			
SEQ ID NO: 99	T0170PMP084B07	:	.....L..L...N.....			
SEQ ID NO: 10	T0170PMP055A01	:	.....Y.....N.....			
SEQ ID NO: 11	T0170PMP055A02	:	.....Y.....N.....			
SEQ ID NO: 22	T0170PMP055D03	:	.....Y.....N.....			
SEQ ID NO: 24	T0170PMP055D10	:	.....Y.....N.....			

Tabla A-3: Alineación de secuencias de agentes de unión de agrupación A de TCR - parte 2

		1 10 20 30 40 50 60 70 78
	n.º de Kabat :	| | | | | | | | |
SEQ ID NO: 50	T0170PMP056G05 :	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMV
SEQ ID NO: 71	T0170PMP068E01 :	..............E......A.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 101	T0170PMP084E03 :	.....A.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 102	T0170PMP084E05 :	.....A.....I...H....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 30	T0170PMP055F08 :	.....A.....I.....A....M....T...A.....A.....A....
SEQ ID NO: 37	T0170PMP056C01 :	.....A...G.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 49	T0170PMP056G02 :	..........A.....A.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 57	T0170PMP067A03 :	.....A.....I.....A..H.M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 59	T0170PMP067C09 :	.....A.....I.....A....M....T...A.....AE...
SEQ ID NO: 74	T0170PMP068F06 :	.....A.....I.....A....M....T...A.....A..V.
SEQ ID NO: 82	T0170PMP069D02 :	.........M.....A.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 93	T0170PMP070D07 :	.....A.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 100	T0170PMP084C02 :	.....A.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 55	T0170PMP061B04 :	.....A.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 83	T0170PMP069D07 :	.....A.....I.....V.A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 36	T0170PMP056B11 :	.............A....T...A.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 104	T0170PMP084F10 :	.........W..A.....A.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 39	T0170PMP056C03 :	.....A.....I.....A....M....T...T.....A....
SEQ ID NO: 80	T0170PMP069C04 :	.....A.....I.....A.G..M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 44	T0170PMP056D02 :	.....A.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 56	T0170PMP067A01 :	.....A.....I.....A...GM....T...A.....A....
SEQ ID NO: 58	T0170PMP067B06 :	.....A.....I.....AR...M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 88	T0170PMP069F05 :	.....A.....I.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 103	T0170PMP084F04 :	.....A.....I...H....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 21	T0170PMP055C10 :	.....A.....V.....A....M....T...A.....A....
SEQ ID NO: 9	T0170PMP053E10 :	.....R.....I.....A....M....T...A....E.....A....
SEQ ID NO: 15	T0170PMP055B01 :	.....R.....I.....A....M....T...A.V..E.....A....
SEQ ID NO: 79	T0170PMP069C01 :	.....R.....I.....A....MI...T...A....E.....A....
SEQ ID NO: 62	T0170PMP067D09 :	.....A.....I.....A....M....T...A.S..G.....A....
SEQ ID NO: 63	T0170PMP067E03 :	.....A.....I.....A....M....T...A.S.....A....
SEQ ID NO: 43	T0170PMP056D01 :	.........D.....A.....M....T.A.A....EF.....P....
SEQ ID NO: 64	T0170PMP067E06 :	.........D.....A.....M....T.A.A....EF.....P....
SEQ ID NO: 86	T0170PMP069E09 :	.....A.....M....T.A.A....EF.....P....
SEQ ID NO: 81	T0170PMP069C05 :	.........D.....A.....M....T.A.A....EF.....P....
SEQ ID NO: 90	T0170PMP070B08 :	.........D.....A.....M....T.A.A....EF.....P....
SEQ ID NO: 12	T0170PMP055A03 :	.....T....A.....A....

Tabla A-4: Alineación de secuencias de agentes de unión de agrupación A de TCR - parte 2 continuada

			79	90	100	110
	n.º de Kabat	:	| ab	|	|a	|
SEQ ID NO: 50	T0170PMP056G05	:	YLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSS			
SEQ ID NO: 71	T0170PMP068E01	:	..................Y.....N.....			
SEQ ID NO: 101	T0170PMP084E03	:	.........G.........Y.....N.....			
SEQ ID NO: 102	T0170PMP084E05	:	..................Y.....N.....			
SEQ ID NO: 30	T0170PMP055F08	:	..................Y.....N.....			
SEQ ID NO: 37	T0170PMP056C01	:	..................Y.....N.....			
SEQ ID NO: 49	T0170PMP056G02	:	..................Y.....N.....			
SEQ ID NO: 57	T0170PMP067A03	:	..................Y.....N.....			
SEQ ID NO: 59	T0170PMP067C09	:	..................Y.....N.....			
SEQ ID NO: 74	T0170PMP068F06	:	..................Y.....N.....			
SEQ ID NO: 82	T0170PMP069D02	:	..................Y.....N.....			
SEQ ID NO: 93	T0170PMP070D07	:	...........A.......Y.....N.....			
SEQ ID NO: 100	T0170PMP084C02	:	....D.............Y.....N.....			
SEQ ID NO: 55	T0170PMP061B04	:	............A.....Y.....N.....			
SEQ ID NO: 83	T0170PMP069D07	:	............A.....Y.....N.....			
SEQ ID NO: 36	T0170PMP056B11	:	..................Y.....N.....			
SEQ ID NO: 104	T0170PMP084F10	:	..................Y.....N.....			
SEQ ID NO: 39	T0170PMP056C03	:	..................Y.....N.....Q.....			
SEQ ID NO: 80	T0170PMP069C04	:	..................Y.....N.....Q.....			
SEQ ID NO: 44	T0170PMP056D02	:	..................Y.....N...R..Q.....			
SEQ ID NO: 56	T0170PMP067A01	:	..................Y.....N.....Q.....			
SEQ ID NO: 58	T0170PMP067B06	:	..................Y.....N.....Q.....			
SEQ ID NO: 88	T0170PMP069F05	:	.............L...Y.....N.....Q.....			
SEQ ID NO: 103	T0170PMP084F04	:	............A.....Y.....N.....Q.....			
SEQ ID NO: 21	T0170PMP055C10	:	H.................Y.....N.....Q.....			
SEQ ID NO: 9	T0170PMP053E10	:	..................Y.....N.....Q.....			
SEQ ID NO: 15	T0170PMP055B01	:	..................Y.....N.....Q.....			
SEQ ID NO: 79	T0170PMP069C01	:	..................Y.....N.....Q.....			
SEQ ID NO: 62	T0170PMP067D09	:	...L.N............Y.....N.....			
SEQ ID NO: 63	T0170PMP067E03	:	...L.N............Y.....N.....			
SEQ ID NO: 43	T0170PMP056D01	:	H.............L...G.....N.....Q.....			
SEQ ID NO: 64	T0170PMP067E06	:	.............L...G.....N.....Q.....			
SEQ ID NO: 86	T0170PMP069E09	:	.............L...G.....N.....Q.....			
SEQ ID NO: 81	T0170PMP069C05	:	.............L...G.....S.....Q.....			
SEQ ID NO: 90	T0170PMP070B08	:	.........V.....L...G.....N.....			
SEQ ID NO: 12	T0170PMP055A03	:	..................G.....Q.....			

Tabla A-5: Alineación de secuencias de agentes de unión de agrupación A de TCR - parte 3

	n.º de Kabat	1 10 20 30 40 50 60 70 78
SEQ ID NO: 50	T0170PMP056G05	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMV
SEQ ID NO: 41	T0170PMP056C07	.....T....A.....A....
SEQ ID NO: 92	T0170PMP070C09	.....P.....T....A.....A....
SEQ ID NO: 98	T0170PMP082B04	.....P.....T.A..A.....A....
SEQ ID NO: 33	T0170PMP056A02	.....A.....T.....A....
SEQ ID NO: 31	T0170PMP055G05	.....A.....H.....T...A.....A....
SEQ ID NO: 78	T0170PMP069B08	.....A.....Y.....H.....T...A.....A....
SEQ ID NO: 20	T0170PMP055C06	.....H.....A.....H..P.....T...V.....A....
SEQ ID NO: 23	T0170PMP055D06	.....A.....H.....T...V.....A....
SEQ ID NO: 25	T0170PMP055E01	.....A...E.Y.....T.A.VA....F.....A....
SEQ ID NO: 27	T0170PMP055F02	.....A...E.Y.....T.A.VA....F.....A....
SEQ ID NO: 38	T0170PMP056C02	.....A...E.Y.....T.A.VA....F.Q.....A....
SEQ ID NO: 97	T0170PMP070G06	.....P..A...E.Y.....T.A.VA....F.....A....
SEQ ID NO: 89	T0170PMP069G08	.....A...E.Y.....Q.....T.A.VA....F.....A....
SEQ ID NO: 94	T0170PMP070E07	.....A...E.Y.....T.A.VA....F.....GA....
SEQ ID NO: 70	T0170PMP068D07	.....A...E.Y.....T.A.VA....F.....V....
SEQ ID NO: 51	T0170PMP056G11	.....A...E.Y.....T.A.AA....F.....GA....
SEQ ID NO: 67	T0170PMP068C07	.....A...E.Y.....T.A.AA....F.....A....
SEQ ID NO: 84	T0170PMP069E02	.....A...E.Y.....T.A.AA....F.....A....
SEQ ID NO: 68	T0170PMP068C11	.....A...E.Y.....T.A.AA....F.....A....
SEQ ID NO: 72	T0170PMP068E08	.....A...E.Y.....T.A.AA....F.....A....
SEQ ID NO: 46	T0170PMP056E02	.....E.....A...E.Y.....T.A.VA....F....L.....A....
SEQ ID NO: 35	T0170PMP056A10	.....AV..S..LL.....GV....T.A.A...SHF.....A....
SEQ ID NO: 42	T0170PMP056C10	.....AV..S..LL.....M.T..T.A.A...SHF.....A....
SEQ ID NO: 16	T0170PMP055B02	.....A...S..LL.....C.....M....T.A.A...SHF.....A....
SEQ ID NO: 34	T0170PMP056A08	.....A...S..LL.....M....T.A.A...SHF.....A....
SEQ ID NO: 40	T0170PMP056C04	.....A...S..LL.....M....T.A.A...SHF.....A....
SEQ ID NO: 53	T0170PMP057D06	.....A...S..LL.....M....T.A.A...SHF.....A....
SEQ ID NO: 7	T0170PMP053A03	.....AV..S..LL.....M....T.A.A...SHF.....A....
SEQ ID NO: 85	T0170PMP069E07	.....A...S..LL.....M....T.A.A...SHF.....A....
SEQ ID NO: 18	T0170PMP055B11	.....A...S..LL.....M....T.A.A....HF.....A....
SEQ ID NO: 48	T0170PMP056F08	.....G...A...S..LL.....M....T.A.A....HF.....A....
SEQ ID NO: 91	T0170PMP070B09	.....A...S..LL.....T.A.A...SHF.....A....
SEQ ID NO: 73	T0170PMP068F04	.....A...S..LL.....M....T.A.V...SYF.....A....
SEQ ID NO: 14	T0170PMP055A10	.....A...S..LL.....M.....A.A....HF.....A....
SEQ ID NO: 17	T0170PMP055B03	.....P..A...S..LL.....M....T.A.A....HF.....A....
SEQ ID NO: 52	T0170PMP057B02	.....W.....A...S.Y.....S.....H...L..T.T...AA.....AR...

Tabla A-6: Alineación de secuencias de agentes de unión de agrupación A de TCR - parte 3 continuada

			79	90	100	110
	n.º de Kabat	:	| ab	|	|a	|
SEQ ID NO: 50	T0170PMP056G05	:	YLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSS			
SEQ ID NO: 41	T0170PMP056C07	:	.....	G.....	R.....	
SEQ ID NO: 92	T0170PMP070C09	:	.....	G.....		
SEQ ID NO: 98	T0170PMP082B04	:	.....	G.....		
SEQ ID NO: 33	T0170PMP056A02	:	.....	G...W.....	Q.....	
SEQ ID NO: 31	T0170PMP055G05	:	.....	G.....	Q.....	
SEQ ID NO: 78	T0170PMP069B08	:	.....	G.....		
SEQ ID NO: 20	T0170PMP055C06	:	.....N.....	G.....	Q.....	
SEQ ID NO: 23	T0170PMP055D06	:	F....N.....	G.....	Q.....	
SEQ ID NO: 25	T0170PMP055E01	:	.....	G...W.....	Q.....	
SEQ ID NO: 27	T0170PMP055F02	:	.....	G...W.....		
SEQ ID NO: 38	T0170PMP056C02	:	.....	G...W.....	Q.....	
SEQ ID NO: 97	T0170PMP070G06	:	.....	G...W.....	Q.....	
SEQ ID NO: 89	T0170PMP069G08	:	.....	G...W.....		
SEQ ID NO: 94	T0170PMP070E07	:	.....	G...W.....		
SEQ ID NO: 70	T0170PMP068D07	:	.....	G...W.....		
SEQ ID NO: 51	T0170PMP056G11	:	.....	G...W.....	Q.....	
SEQ ID NO: 67	T0170PMP068C07	:	.....	G...W.....	Q.....	
SEQ ID NO: 84	T0170PMP069E02	:	.....	G...W.....		
SEQ ID NO: 68	T0170PMP068C11	:	.....	G.....	Q.....	
SEQ ID NO: 72	T0170PMP068E08	:	.....R.....	G...W.....	Q.....	
SEQ ID NO: 46	T0170PMP056E02	:	.....	G...W.....		
SEQ ID NO: 35	T0170PMP056A10	:	.....R.....	G.....	Q.....	
SEQ ID NO: 42	T0170PMP056C10	:	.....R.....	G.....	Q.....	
SEQ ID NO: 16	T0170PMP055B02	:	.....R.....	G.....		
SEQ ID NO: 34	T0170PMP056A08	:	.....R.....	G.....		
SEQ ID NO: 40	T0170PMP056C04	:	.....R.....	G.....	H.....	
SEQ ID NO: 53	T0170PMP057D06	:	.....R.....	G.....	Q.....	
SEQ ID NO: 7	T0170PMP053A03	:	.....R.....	G.....		
SEQ ID NO: 85	T0170PMP069E07	:	.....G.R.....	G.....		
SEQ ID NO: 18	T0170PMP055B11	:	.....R.....	G.....		
SEQ ID NO: 48	T0170PMP056F08	:	.....R.....	G.....		
SEQ ID NO: 91	T0170PMP070B09	:	.....N.R.....	G.....		
SEQ ID NO: 73	T0170PMP068F04	:	.....R.....	G.....	Q.....	
SEQ ID NO: 14	T0170PMP055A10	:	.....R.....	G.....	R..Q.....	
SEQ ID NO: 17	T0170PMP055B03	:	.....R.....	G.....	Q.....	
SEQ ID NO: 52	T0170PMP057B02	:	.....L...H.G..L...N.....		Q.....	

Tabla A-7: Alineación de secuencias de agentes de unión de agrupación B de TCR

```
                                    1         10        20        30        40        50        60        70      77
                    n.º de Kabat  : |     a   |         |         |         |         |         |         |       |
SEQ ID NO: 106      T0170PMP055C07 : EVQLVE-SGGGLVQPGGSLRLSCITSGETFKINIWGWYRQAPGKQRELVASLTIGGATNYADSVKGRFTISEDSAKNT
SEQ ID NO: 105      T0170PMP055B06 : ......-.....................................................D...................
SEQ ID NO: 115      T0170PMP070C01 : ......-.....................................................................D.
SEQ ID NO: 108      T0170PMP056B02 : ......-.....................................T.....................................
SEQ ID NO: 109      T0170PMP056D07 : ......-.....................Q.....................................................
SEQ ID NO: 112      T0170PMP069E03 : ......-.....................................................................
SEQ ID NO: 111      T0170PMP068G05 : ......E.....................................................................
SEQ ID NO: 114      T0170PMP070A09 : ......-.....................................................................
SEQ ID NO: 107      T0170PMP055D01 : ......-.....................................R...............................
SEQ ID NO: 110      T0170PMP068B03 : ......-.........................V........G.....................................
SEQ ID NO: 113      T0170PMP069E06 : ......-................L.......V........G.....................................

                                    78              90        100       110
                    n.º de Kabat  : |    abc        |         |a        |
SEQ ID NO: 106      T0170PMP055C07 : VYLQMNSLKPEDTAVYFCNAKSRLYPYDYWGQGTLVTVSS
SEQ ID NO: 105      T0170PMP055B06 : .........A.........................Q.....
SEQ ID NO: 115      T0170PMP070C01 : ...................................
SEQ ID NO: 108      T0170PMP056B02 : ..................................Q.....
SEQ ID NO: 109      T0170PMP056D07 : ..................................Q.....
SEQ ID NO: 112      T0170PMP069E03 : ..............................D...Q.....
SEQ ID NO: 111      T0170PMP068G05 : ......................I.......R..Q.....
SEQ ID NO: 114      T0170PMP070A09 : ......................I.......R..Q.....
SEQ ID NO: 107      T0170PMP055D01 : ......................I..........Q.....
SEQ ID NO: 110      T0170PMP068B03 : ..............................R..Q.....
SEQ ID NO: 113      T0170PMP069E06 : .....S.........................Q.....
```

Tabla A-8: Alineación de secuencias de agentes de unión de agrupación C de TCR

```
                                                1         10        20        30        40        50        60        70        78
                                                |         |         |         |         |         |         |         |         |
                    n.º de Kabat            :   |         |         |         |         |         |         |         |         |
SEQ ID NO: 116      T0170PMP061G01          :   EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGEIGRINFYRWYRQAPGNQREVVATITIADKTDYADSAKGRFTISRDESRNMV
SEQ ID NO: 118      T0170PMP075D02          :   ....................................................................................
SEQ ID NO: 117      T0170PMP062D02          :   ....................................G...............I.....................................

                                                79        90        100       110
                                                |   abc   |         la        |
SEQ ID NO: 116      T0170PMP061G01          :   YLQMSSLKPEDTAVYFCHAGSRLYPYDYWGQGTQVTVSS
SEQ ID NO: 118      T0170PMP075D02          :   .....N.....................................
SEQ ID NO: 117      T0170PMP062D02          :   ....G......................................
```

Tabla A-4: Secuencias para CDR y de entramado, más combinaciones preferidas según se proporciona en la fórmula I, a saber, FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. "SEQ" se refiere a la SEQ ID NO. La primera columna se refiere a la SEQ ID NO del ISV completo, es decir, FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. CDR1, CDR2 y CDR3 se determinaron según Kontermann, 2010.

SEQ	Nanobody	SEQ	FR1	SEQ	CDR1	SEQ	FR2	SEQ	CDR2	SEQ	FR3	SEQ	CDR3	SEQ	FR4
1	T0170PMP 027A05	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	119	GSVHKIN FLG	203	WYRQAPGKE RELVA	134	TITIGD TTD	235	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVHFCRA	164	GSRLYPYNY	285	WGQGTQ VTVSS
2	T0170PMP 028B01	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	119	GSVHKIN FLG	204	WYRQAPGKE RGLVA	134	TITIGD TTD	236	YADYAKGRFTISRDEARNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	164	GSRLYPYNY	285	WGQGTQ VTVSS
3	T0170PMP 028F10	176	EVQLVESGGGLVQ PGRSLRLPCAAS	119	GSVHKIN FLG	205	WYRQAPGKE REMVA	135	TITIGD ATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	164	GSRLYPYNY	285	WGQGTQ VTVSS
4	T0170PMP 028G06	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	119	GSVHKIN FLG	203	WYRQAPGKE RELVA	134	TITIGD TTD	236	YADYAKGRFTISRDEARNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	164	GSRLYPYNY	286	WGQGTL VTVSS
5	T0170PMP 029F08	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	119	GSVHKIN FLG	205	WYRQAPGKE REMVA	135	TITIGD ATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	164	GSRLYPYNY	286	WGQGTL VTVSS
6	T0170PMP 040C01	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	119	GSVHKIN FLG	203	WYRQAPGKE RELVA	134	TITIGD TTD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	164	GSRLYPYNY	285	WGQGTQ VTVSS
7	T0170PMP 053A03	177	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAVS	120	GSVHLLN FLG	205	WYRQAPGKE REMVA	136	HITIAD ATD	238	YSHFAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	286	WGQGTL VTVSS
8	T0170PMP 053D01	178	EVQLVESGGGLVQ PGGSLKLSCAAS	121	GAVHKIN FLG	206	WYRQTPEKE REMVA	137	TITIGD DVD	239	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMTSLKPEDTAVYVCRA	164	GSRLYPYNY	286	WGQGTL VTVSS
9	T0170PMP 053E10	179	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCRAS	122	GDVHKIN ILG	207	WYRQAPAKE REMVA	138	HITIGD ATD	240	YAESAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	285	WGQGTQ VTVSS
10	T0170PMP 055A01	180	EVQLVESGGGLVR PGGSLRLSCAAS	122	GDVHKIN ILG	207	WYRQAPAKE REMVA	138	HITIGD ATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTL VTVSS
11	T0170PMP 055A02	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	122	GDVHKIN ILG	207	WYRQAPAKE REMVA	138	HITIGD ATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTL VTVSS
12	T0170PMP 055A03	181	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCVAS	123	GDVHKIN FLG	208	WYRQAPGKE REKVA	139	HITIGD QAD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	285	WGQGTQ VTVSS
13	T0170PMP 055A08	182	EVQLVESGGGSVQ PGGSLRLSCAAS	119	GSVHKIN FLG	205	WYRQAPGKE REMVA	135	TITIGD ATD	241	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLSPEDTAVYFCRA	164	GSRLYPYNY	286	WGQGTL VTVSS
14	T0170PMP 055A10	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	120	GSVHLLN FLG	205	WYRQAPGKE REMVA	140	HISIAD ATD	242	YAHFAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	287	WGRGTQ VTVSS
15	T0170PMP 055B01	179	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCRAS	122	GDVHKIN ILG	207	WYRQAPAKE REMVA	141	HITIGD ATV	240	YAESAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	285	WGQGTQ VTVSS
16	T0170PMP 055B02	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	120	GSVHLLN FLG	209	WYRQCPGKE REMVA	136	HITIAD ATD	238	YSHFAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	286	WGQGTL VTVSS

SEQ	Nanobody	SEQ	FR1	SEQ	CDR1	SEQ	FR2	SEQ	CDR2	SEQ	FR3	SEQ	CDR3	SEQ	FR4
17	T0170PMP055B03	183	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	120	GSVHLLNFLG	205	WYRQAPGKEREMVA	136	HITIADATD	242	YAHFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDYWGQGTQVTVSS	285	WGQGTQVTVSS
18	T0170PMP055B11	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	120	GSVHLLNFLG	205	WYRQAPGKEREMVA	136	HITIADATD	242	YAHFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	286	WGQGTLVTVSS
19	T0170PMP055C02	178	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS	121	GAVHKINFLG	206	WYRQTPEKEREMVA	143	HITIGDEVD	244	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMTSLTPEDTAVYVCRA	164	GSRLYPYNY	285	WGQGTQVTVSS
20	T0170PMP055C06	185	EVQLVESGGGLVHPGGSLRLSCAAS	123	GDVHKINFLG	211	WHRQPPGKEREKVA	144	HITIGDVTD	245	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNNLKPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	285	WGQGTQVTVSS
21	T0170PMP055C10	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	125	GDVHKINVLG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	247	YADSAKGRFTISRDEAKNMVHLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	285	WGQGTQVTVSS
22	T0170PMP055D03	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	146	HITIGDATN	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
23	T0170PMP055D06	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	123	GDVHKINFLG	213	WHRQAPGKEREKVA	144	HITIGDVTD	248	YADSAKGRFTISRDEAKNMVFLQMNNLKPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	285	WGQGTQVTVSS
24	T0170PMP055D10	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	249	YAGSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
25	T0170PMP055E01	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	126	GEVYKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	147	HITIADVAD	250	YADFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	169	GSRIWPYDY	285	WGQGTQVTVSS
26	T0170PMP055E05	178	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS	121	GAVHKINFLG	214	WYRQAPEKEREMVA	148	TITIGDEVD	251	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMTSLKPEDTVYVCRA	164	GSRLYPYNY	285	WGQGTQVTVSS
27	T0170PMP055F02	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	126	GEVYKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	147	HITIADVAD	250	YADFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	169	GSRIWPYDY	286	WGQGTLVTVSS
28	T0170PMP055F03	181	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVAS	122	GDVHKINILG	208	WYRQAPGKEREKVA	149	HISISDQTD	252	YAESAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYLCRA	170	FSRIYPYDY	286	WGQGTLVTVSS
29	T0170PMP055F06	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	119	GSVHKINFLG	203	WYRQAPGKERELVA	135	TITIGDATD	236	YADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	164	GSRLYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
30	T0170PMP055F08	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	253	YADSAKGRFAISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
31	T0170PMP055G05	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	123	GDVHKINFLG	213	WHRQAPGKEREKVA	138	HITIGDATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	285	WGQGTQVTVSS
32	T0170PMP055G09	182	EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAAS	119	GSVHKINFLG	215	WYRQAPGKEREVVA	135	TITIGDATD	241	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLSPEDTAVYFCRA	164	GSRLYPYNY	285	WGQGTQVTVSS
33	T0170PMP056A02	186	EVQLVESGGGLVQPGGSARLSCVAS	123	GDVHKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	150	HITIGDQTD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	169	GSRIWPYDY	285	WGQGTQVTVSS
34	T0170PMP056A08	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	120	GSVHLLNFLG	205	WYRQAPGKEREMVA	136	HITIADATD	238	YSHFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	286	WGQGTLVTVSS

SEQ	Nanobody	SEQ	FR1	SEQ	CDR1	SEQ	FR2	SEQ	CDR2	SEQ	FR3	SEQ	CDR3	SEQ	FR4
35	T0170PMP056A10	177	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVS	120	GSVHLLNFLG	216	WYRQAPGKERGVVA	136	HITIADATD	238	YSHFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	285	WGQGTQVTVSS
36	T0170PMP056B11	187	EVQLVESGGGLVQAGGSLTLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
37	T0170PMP056C01	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	127	GGVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
38	T0170PMP056C02	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	126	GEVYKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	147	HITIADVAD	254	YADFAQGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	169	GSRIWPYDY	285	WGQGTQVTVSS
39	T0170PMP056C03	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	151	HITIGDTTD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	285	WGQGTQVTVSS
40	T0170PMP056C04	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	120	GSVHLLNFLG	205	WYRQAPGKEREMVA	136	HITIADATD	238	YSHFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	288	WGHGTLVTVSS
41	T0170PMP056C07	181	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVAS	123	GDVHKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	139	HITIGDQAD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	289	WGRGTLVTVSS
42	T0170PMP056C10	177	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAVS	120	GSVHLLNFLG	218	WYRQAPGKEREMVT	136	HITIADATD	238	YSHFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	285	WGQGTQVTVSS
43	T0170PMP056D01	188	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAAS	123	GDVHKINFLG	205	WYRQAPGKEREMVA	136	HITIADATD	255	YAEFAKGRFTISRDEPKNMVHLQMNSLKPEDTAVYLCRA	171	GSRIYPYNY	285	WGQGTQVTVSS
44	T0170PMP056D02	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	287	WGRGTQVTVSS
45	T0170PMP056D11	181	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVAS	122	GDVHKINILG	208	WYRQAPGKEREKVA	152	RISISDQTD	252	YAESAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLRPEDTAVYLCRA	170	FSRIYPYDY	286	WGQGTLVTVSS
46	T0170PMP056E02	189	EVQLVESGGGLVQPEGSLRLSCAAS	126	GEVYKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	147	HITIADVAD	256	YADFAKGRLTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRA	169	GSRIWPYDY	286	WGQGTLVTVSS
47	T0170PMP056F01	190	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLPCAAS	121	GAVHKINFLG	206	WYRQTPEKEREMVA	148	TITIGDEVD	239	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMTSLKPEDTAVYVCRA	164	GSRLYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
48	T0170PMP056F08	191	EVQLVESGGGLVQPGGSLGLSCAAS	120	GSVHLLNFLG	205	WYRQAPGKEREMVA	136	HITIADATD	242	YAHFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	286	WGQGTLVTVSS
49	T0170PMP056G02	192	EVQLVESGGGLAQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
50	T0170PMP056G05 / T0170PMP069C08	181	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVAS	123	GDVHKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	153	HISIGDQTD	257	YADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRA	170	FSRIYPYDY	286	WGQGTLVTVSS
51	T0170PMP056G11	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	126	GEVYKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	154	HITIADAAD	258	YADFAKGRFTISRDGAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	169	GSRIWPYDY	285	WGQGTQVTVSS

SEQ	Nanobody	SEQ	FR1	SEQ	CDR1	SEQ	FR2	SEQ	CDR2	SEQ	FR3	SEQ	CDR3	SEQ	FR4
52	T0170PMP057B02	193	EVQLVESGGGWVQPGGSLRLSCAAS	129	GSVYKINFLS	219	WYRQAPGHERELVA	155	TITIGDAAD	259	YADSAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTALYFCHA	164	GSRLYPYNY	285	WGQGTQVTVSS
53	T0170PMP057D06	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	120	GSVHLLNFLG	205	WYRQAPGKEREMVA	136	HITIADATD	238	YSHFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	285	WGQGTQVTVSS
54	T0170PMP061A02	181	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVAS	122	GDVHKINILG	208	WYRQAPGKEREKVA	156	HIAISDQTD	252	YAESAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYLCRA	170	FSRIYPYDY	286	WGQGTLVTVSS
55	T0170PMP061B04	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	260	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAAYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
56	T0170PMP067A01	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	222	WYRQAPAKERGMVA	138	HITIGDATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	285	WGQGTQVTVSS
57	T0170PMP067A03	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	223	WYRQAPAKEHEMVA	138	HITIGDATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
58	T0170PMP067B06	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	224	WYRQAPAREREMVA	138	HITIGDATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	285	WGQGTQVTVSS
59	T0170PMP067C09	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	263	YADSAKGRFTISRDEAENMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
60	T0170PMP067D01	178	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS	121	GAVHKINFLG	206	WYRQTPEKEREMVA	148	TITIGDEVD	239	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMTSLKPEDTAVYVCRA	164	GSRLYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
61	T0170PMP067D06	178	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS	121	GAVHKINFLG	214	WYRQAPEKEREMVA	148	TITIGDEVD	264	YADSAKGRFTISRDEATNMVYLQMTSLKPEDTAVYFCRA	171	GSRIYPYNY	285	WGQGTQVTVSS
62	T0170PMP067D09	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	159	HITIGDATS	265	YAGSAKGRFTISRDEAKNMVYLQLNNLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
63	T0170PMP067E03	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	159	HITIGDATS	266	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQLNNLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTLVTVSS
64	T0170PMP067E06	188	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAAS	123	GDVHKINFLG	205	WYRQAPGKEREMVA	136	HITIADATD	267	YAEFAKGRFTISRDEPKNMVYLQLCRA	171	GSRIYPYNY	285	WGQGTQVTVSS
65	T0170PMP067F02	178	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS	121	GAVHKINFLG	206	WYRQTPEKEREMVA	148	TITIGDEVD	268	YAHSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMTSLKPEDTAVYVCRA	164	GSRLYPYNY	285	WGQGTQVTVSS
66	T0170PMP068C03	178	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAAS	121	GAVHKINFLG	206	WYRQTPEKEREMVA	160	TITIGDEVA	239	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMTSLKPEDTAVYVCRA	164	GSRLYPYNY	285	WGQGTQVTVSS
67	T0170PMP068C07	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	126	GEVYKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	154	HITIADAAD	250	YADFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	169	GSRIWPYDY	285	WGQGTQVTVSS
68	T0170PMP068C11	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	126	GEVYKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	154	HITIADAAD	250	YADFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	285	WGQGTQVTVSS
69	T0170PMP068D05	194	EVQLVESGGGSVQPGGSLRPSCAAS	119	GSVHKINFLG	205	WYRQAPGKEREMVA	135	TITIGDATD	241	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLSPEDTAVYFCRA	164	GSRLYPYNY	285	WGQGTQVTVSS

SEQ	Nanobody	SEQ	FR1	SEQ	CDR1	SEQ	FR2	SEQ	CDR2	SEQ	FR3	SEQ	CDR3	SEQ	FR4
70	T0170PMP 068D07	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	126	GEVYKIN FLG	208	WYRQAPGKE REKVA	147	HITIAD VAD	269	YADFAKGRFTISRDEVKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	169	GSRIWPYDY	286	WGQGTL VTVSS
71	T0170PMP 068E01	195	EVQLVESGGGLVQ PGESLRLSCAAS	122	GDVHKIN ILG	207	WYRQAPAKE REMVA	138	HITIGD ATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTL VTVSS
72	T0170PMP 068E08	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	126	GEVYKIN FLG	208	WYRQAPGKE REKVA	154	HITIAD AAD	270	YADFAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLRPEDTAVYFCRA	169	GSRIWPYDY	285	WGQGTQ VTVSS
73	T0170PMP 068F04	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	120	GSVHLLN FLG	205	WYRQAPGKE REMVA	161	HITIAD VTD	271	YSYFAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	285	WGQGTQ VTVSS
74	T0170PMP 068F06	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	122	GDVHKIN ILG	207	WYRQAPAKE REMVA	138	HITIGD ATD	272	YADSAKGRFTISRDEAKNVV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTL VTVSS
75	T0170PMP 068F08	182	EVQLVESGGGSVQ PGGSLRLSCAAS	119	GSVHKIN FLG	226	WYRQAPGKE RGMVA	135	TITIGD ATD	241	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLSPEDTAVYFCRA	164	GSRLYPYNY	285	WGQGTQ VTVSS
76	T0170PMP 069A06	178	EVQLVESGGGLVQ PGGSLKLSCAAS	121	GAVHKIN FLG	206	WYRQTPEKE REMVA	148	TITIGD EVD	273	YEDSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMTGLKPEDTAVYVCRA	164	GSRLYPYNY	286	WGQGTL VTVSS
77	T0170PMP 069B02	197	EVQLVESGGGLVR PGGSLRLSCVAS	122	GDVHKIN ILG	208	WYRQAPGKE REKVA	149	HISISD QTD	252	YAESAKGRFTISRDESKNMV YLQMNSLKPEDTAVYLCRA	170	FSRIYPYDY	285	WGQGTQ VTVSS
78	T0170PMP 069B08	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	132	GDVYKIN FLG	213	WHRQAPGKE REKVA	138	HITIGD ATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	286	WGQGTL VTVSS
79	T0170PMP 069C01	179	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCRAS	122	GDVHKIN ILG	227	WYRQAPAKE REMIA	138	HITIGD ATD	240	YAESAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	285	WGQGTQ VTVSS
80	T0170PMP 069C04	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	122	GDVHKIN ILG	228	WYRQAPAKG REMVA	138	HITIGD ATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	285	WGQGTQ VTVSS
81	T0170PMP 069C05	188	EVQLVESGGDLVQ PGGSLRLSCAAS	123	GDVHKIN FLG	205	WYRQAPGKE REMVA	136	HITIAD ATD	267	YAEFAKGRFTISRDEPKNMV YLQMNSLKPEDTAVYLCRA	173	GSRIYPYSY	285	WGQGTQ VTVSS
82	T0170PMP 069D02	198	EVQLVESGGGMVQ PGGSLRLSCAAS	122	GDVHKIN ILG	207	WYRQAPAKE REMVA	138	HITIGD ATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTL VTVSS
83	T0170PMP 069D07	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	122	GDVHKIN ILG	229	WYRQVPAKE REMVA	138	HITIGD ATD	260	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAAYFCRA	166	YSRIYPYNY	286	WGQGTL VTVSS
84	T0170PMP 069E02	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	126	GEVYKIN FLG	208	WYRQAPGKE REKVA	154	HITIAD AAD	250	YADFAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	169	GSRIWPYDY	286	WGQGTL VTVSS
85	T0170PMP 069E07	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	120	GSVHLLN FLG	205	WYRQAPGKE REMVA	136	HITIAD ATD	275	YSHFAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNGLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDY	286	WGQGTL VTVSS
86	T0170PMP 069E09	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	123	GDVHKIN FLG	205	WYRQAPGKE REMVA	136	HITIAD ATD	267	YAEFAKGRFTISRDEPKNMV YLQMNSLKPEDTAVYLCRA	171	GSRIYPYNY	285	WGQGTQ VTVSS
87	T0170PMP 069E11	175	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCAAS	133	GEVHKIN ILG	230	WYRQCPGKE RDMVA	135	TITIGD ATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMV YLQMNSLKPEDTAVYFCRA	174	LSRLYPYNY	286	WGQGTL VTVSS

SEQ	Nanobody	SEQ	FR1	SEQ	CDR1	SEQ	FR2	SEQ	CDR2	SEQ	FR3	SEQ	CDR3	SEQ	FR4
88	T0170PMP069F05	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	276	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYLCRA	166	YSRIYPYNYVTVSS	285	WGQGTQVTVSS
89	T0170PMP069G08	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	126	GEVYKINFLG	231	WQRQAPGKEREKVA	147	HITIADVAD	250	YADFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	169	GSRIWPYDYVTVSS	286	WGQGTLVTVSS
90	T0170PMP070B08	188	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAAS	123	GDVHKINFLG	205	WYRQAPGKEREMVA	136	HITIADATD	277	YAEFAKGRFTISRDEPKNMVYLQMNSLKPVDTAVYLCRA	171	GSRIYPYNYVTVSS	286	WGQGTLVTVSS
91	T0170PMP070B09	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	120	GSVHLLNFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	136	HITIADATD	278	YSHFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNNLRPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDYVTVSS	286	WGQGTLVTVSS
92	T0170PMP070C09	200	EVQLVESGGGLVQPGGSPRLSCVAS	123	GDVHKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	139	HITIGDQAD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDYVTVSS	286	WGQGTLVTVSS
93	T0170PMP070D07	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	280	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDAAVYFCRA	166	YSRIYPYNYVTVSS	286	WGQGTLVTVSS
94	T0170PMP070E07	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	126	GEVYKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	147	HITIADVAD	258	YADFAKGRFTISRDGAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	169	GSRIWPYDYVTVSS	286	WGQGTLVTVSS
95	T0170PMP070F11	182	EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAAS	119	GSVHKINFLG	232	WYCQAPGKEREMVA	135	TITIGDATD	241	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMSLSPEDTAVYFCRA	164	GSRLYPYNYVTVSS	285	WGQGTQVTVSS
96	T0170PMP070G02	181	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVAS	122	GDVHKINILG	208	WYRQAPGKEREKVA	149	HISISDQTD	281	YAESAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDAAVYLCRA	170	FSRIYPYDYVTVSS	285	WGQGTQVTVSS
97	T0170PMP070G06	183	EVQLVESGGGLVQPGGSLRPSCAAS	126	GEVYKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	147	HITIADVAD	250	YADFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	169	GSRIWPYDYVTVSS	285	WGQGTQVTVSS
98	T0170PMP082B04	201	EVQLVESGGGLVQPGGSLRPSCVAS	123	GDVHKINFLG	208	WYRQAPGKEREKVA	162	HITIADQAD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	165	GSRIYPYDYVTVSS	286	WGQGTLVTVSS
99	T0170PMP084B07	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	133	GEVHKINILG	233	WYRQAPGKERDMVA	163	TITIGDETQ	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	174	LSRLYPYNYVTVSS	286	WGQGTLVTVSS
100	T0170PMP084C02	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	283	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMDSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNYVTVSS	286	WGQGTLVTVSS
101	T0170PMP084E03	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	284	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPGDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNYVTVSS	286	WGQGTLVTVSS
102	T0170PMP084E05	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	234	WHRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNYVTVSS	286	WGQGTLVTVSS
103	T0170PMP084F04	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	234	WHRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	260	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAAYFCRA	166	YSRIYPYNYVTVSS	285	WGQGTQVTVSS
104	T0170PMP084F10	202	EVQLVESGGGWVQAGGSLRLSCAAS	122	GDVHKINILG	207	WYRQAPAKEREMVA	138	HITIGDATD	237	YADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRA	166	YSRIYPYNYVTVSS	286	WGQGTLVTVSS
105	T0170PMP055B06	184	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITS	124	GETFKINIWG	210	WYRQAPGKQRELVA	142	SLTIGGATD	243	YADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKAEDTAVYFCNA	167	KSRLYPYDYVTVSS	285	WGQGTQVTVSS

SEQ	Nanobody	SEQ	FR1	SEQ	CDR1	SEQ	FR2	SEQ	CDR2	SEQ	FR3	SEQ	CDR3	SEQ	FR4
106	T0170PMP055C07	184	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITS	124	GETFKINIWG	210	WYRQAPGKQRELVA	145	SLTIGGATN	246	YADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNA	167	KSRLYPYDY	286	WGQGTLVTVSS
107	T0170PMP055D01	184	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITS	124	GETFKINIWG	212	WYRQAPGKRRELVA	145	SLTIGGATN	246	YADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNA	168	KSRIYPYDY	285	WGQGTQVTVSS
108	T0170PMP056B02	184	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITS	124	GETFKINIWG	217	WYRQTPGKQRELVA	145	SLTIGGATN	246	YADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNA	167	KSRLYPYDY	285	WGQGTQVTVSS
109	T0170PMP056D07	184	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITS	128	GQTFKINIWG	210	WYRQAPGKQRELVA	145	SLTIGGATN	246	YADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNA	167	KSRLYPYDY	285	WGQGTQVTVSS
110	T0170PMP068B03	184	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITS	131	GETFKVNIWG	225	WYRQGPGKQRELVA	145	SLTIGGATN	246	YADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNA	167	KSRLYPYDY	287	WGRGTQVTVSS
111	T0170PMP068G05	196	EVQLVEESGGGLVQPGGSLRLSCITS	124	GETFKINIWG	210	WYRQAPGKQRELVA	145	SLTIGGATN	246	YADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNA	168	KSRIYPYDY	287	WGRGTQVTVSS
112	T0170PMP069E03	184	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITS	124	GETFKINIWG	210	WYRQAPGKQRELVA	145	SLTIGGATN	246	YADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNA	167	KSRLYPYDY	290	WDQGTQVTVSS
113	T0170PMP069E06	199	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCLTS	131	GETFKVNIWG	225	WYRQGPGKQRELVA	145	SLTIGGATN	274	YADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMSSLKPEDTAVYFCNA	167	KSRLYPYDY	285	WGQGTQVTVSS
114	T0170PMP070A09	184	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITS	124	GETFKINIWG	210	WYRQAPGKQRELVA	145	SLTIGGATN	246	YADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNA	168	KSRIYPYDY	287	WGRGTQVTVSS
115	T0170PMP070C01	184	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITS	124	GETFKINIWG	210	WYRQAPGKQRELVA	145	SLTIGGATN	279	YADSVKGRFTISEDSAKDTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNA	167	KSRLYPYDY	286	WGQGTLVTVSS
116	T0170PMP061G01	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	130	GEIGRINFYR	220	WYRQAPGNQREVVA	157	TITIADKTD	261	YADSAKGRFTISRDESRNMVYLQMSSLKPEDTAVYFCHA	172	GSRLYPYDY	285	WGQGTQVTVSS
117	T0170PMP062D02	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	130	GEIGRINFYR	221	WYRQAPGNQRGVVA	158	TITIADKID	262	YADSAKGRFTISRDESRNMVYLQMGSLKPEDTAVYFCHA	172	GSRLYPYDY	285	WGQGTQVTVSS
118	T0170PMP075D02	175	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	130	GEIGRINFYR	220	WYRQAPGNQREVVA	157	TITIADKTD	282	YADSAKGRFTISRDESRNMVYLQMSSLKPENTAVYFCHA	172	GSRLYPYDY	285	WGQGTQVTVSS

Tabla A-5: Secuencias de polipéptidos multiespecíficos (con y sin etiquetas). "SEQ" se refiere a la SEQ ID NO dada; "ID" se refiere al nombre de identificación; "Secuencia" indica secuencia de aminoácidos

SEQ	ID	Secuencia
291	T017000001	EVQLVESGGGLVQGGGSLSLSCAASGRTFSSYAMAWFRQPPGKEREFVASISWSGENTNYRNSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAA KIAKTYPDNWYWTKSNNYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQGGGSLSLSCAASGRTFSSY AMAWFRQPPGKEREFVASISWSGENTNYRNSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAKIAKTYPDNWYWTKSNNYNYWGQGTLVTVSSG AADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
292	T017000002	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIGDTTDYADYAKGRFTISR DEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
293	T017000003	EVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAA DSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIGDTTD YADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
294	T017000006	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSDVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTIS QDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAADSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
295	T017000007	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIGDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSV KNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
296	T017000008	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIGDTTDYADYAKGRF TISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
297	T017000009	EVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYY.CA ADSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITI GDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHH
298	T017000012	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSDVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGR FTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAADSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHH HH
299	T017000013	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIGDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSIS EDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
300	T017000014	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAP GKERGLVATITIGDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH

SEQ	ID	Secuencia
301	T017000015	EVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAA DSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSV HKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIGDTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSSGAADYKDHD GDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
302	T017000018	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAP GKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAADSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSSGAADYK DHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
303	T017000019	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIGDTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
304	T017000023	EVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAA DSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGT FSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYK DHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
305	T017000025	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIGDTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKE REGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAADSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSSGAADYKDHD GDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
306	T017000029	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVYKINFLGWHRQAPGKEREKVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
307	T017000030	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGAVHKINFLGWYRQTPEKEREMVATITIGDEVDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMTSLKPEDTAVYVCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
308	T017000031	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITSGETFKINIWGWYRQAPGKQRELVASLTIGGATNYADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNAK SRLYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
309	T017000032	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHLLNFLGWYRQAPGKEREMVAHITIADATDYAHFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRAG SRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH

SEQ	ID	Secuencia
310	T017000033	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITSGETFKINIWGWYRQAPGKQRELVASLTIGGATDYADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKAEDTAVYFCNAK SRLYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
311	T017000035	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGEVYKINFLGWYRQAPGKEREKVAHITIADAADYADFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRAG SRIWPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
312	T017000037	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAF SRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
313	T017000038	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGEIGRINFYRWYRQAPGNQREVVATITTIADKTDYADSAKGRFTISRDESRNMVYLQMSSLKPEDTAVYFCHAG SRLYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
314	T017000041	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHITTIGDQADYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
315	T017000042	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAPAKEREMVAHITTIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAY SRIYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
316	T017000044	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERELVATITTIGDTTDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
317	T017000046	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITTIGDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
318	T017000049	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAPAKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYLCRAY SRIYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH

SEQ	ID	Secuencia
319	T017000050	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAP GKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
320	T017000051	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGEIGRINFYRWYRQAP GNQREVVATITIADKTDYADSAKGRFTISRDESRNMVYLQMSSLKPEDTAVYFCHAGSRLYPYDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
321	T017000054	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAP GKEREKVAHITIGDQADYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRIYPYDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
322	T017000055	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAP AKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAYSRIYPYNYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
323	T017000058	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAP GKERELVATITIGDTTDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
324	T017000060	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAP GKERGLVATITIGDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
325	T017000063	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVYKINFLGWHRQAP GKEREKVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRIYPYDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
326	T017000064	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGEVYKINFLGWYRQAP GKEREKVAHITIADAADYADFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRAGSRIWPYDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
327	T017000065	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINFLGWYRQAP GKEREMVAHITIADATDYAEFAKGRFTISRDEPKNMVYLQMNSLKPEDTAVYLCRAGSRIYPYNYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH

SEQ	ID	Secuencia
328	T017000068	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITSGETFKINIWGWYRQAP GKQRELVASLTIGGATNYADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNAKSRLYPYDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
329	T017000069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHLINFLGWYRQAP GKEREMVAHITIADATDYAHFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRAGSRIYPYDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
330	T017000070	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITSGETFKINIWGWYRQAP GKQRELVASLTIGGATDYADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKAEDTAVYFCNAKSRLYPYDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
331	T017000073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAPAKEREMVAHITIGDATSYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQLNNLKPEDTAVYFCRAY SRIYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
332	T017000074	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAF SRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
333	T017000075	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAP AKEREMVAHITIGDATSYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQLNNLKPEDTAVYFCRAYSRIYPYNYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
334	T017000076	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAP GKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
335	T017000077	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREMVAHITIADATDYAEFAKGRFTISRDEPKNMVYLQMNSLKPEDTAVYLCRAG SRIYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
336	T017000078	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAP AKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYLCRAYSRIYPYNYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH

SEQ	ID	Secuencia
337	T017000079	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGAVHKINFLGWYRQTP EKEREMVATITIGDEVDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMTSLKPEDTAVYVCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDD DDKGAAHHHHHH
338	T017000083	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAP AKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAYSRIYPYNYWGQGTLVTVSSA
339	T017000088	DVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAISWSDGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAA DLTSTNPGSYIYIWAYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINIL GWYRQAPAKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAYSRIYPYNYWGQGTLVTVSSA
340	T017000093	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAP GKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGG GGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNS LRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
341	T017000095	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITSGETFKINIWGWYRQAP GKQRELVASLTIGGATNYADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNAKSRLYFYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNS LRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
342	T017000102	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAPGKQRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRF RTAAQGTDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGK EREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDIDYKDDDD KGAAHHHHHH
343	T017000103	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAF SRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAPGKQ RELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRTAAQGTDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDIDYKDDDD KGAAHHHHHH
387	T017000104	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAP AKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAYSRIYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNS LRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
388	T017000105	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAP GKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSSA

SEQ	ID	Secuencia
389	T017000106	DVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAISWSDGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAA DLTSTNPGSYIYIYWAYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINIL GWYRQAPAKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAYSRIYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTT LYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSSA
390	T017000107	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVMGWFRQATGKEREFVATIAWDSGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVHLQMNSLKPEDTAVYYCAA SYNVYYNNYYYPISRDEYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGDTYGSY WMGWFRQAPGKEREGVAAINRGGGYTVYADSVKGRFTISRDTAKNTVYLQMNSLRPDDTADYYCAASGVLGGLHEDWFNYWGQGTLVTVSSGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTIS RDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
391	T017000109	EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAA DSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGDT YGSYWMGWFRQAPGKEREGVAAINRGGGYTVYADSVKGRFTISRDTAKNTVYLQMNSLRPDDTADYYCAASGVLGGLHEDWFNYWGQGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGR FTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
392	T017000110	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVMGWFRQATGKEREFVATIAWDSGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVHLQMNSLKPEDTAVYYCAA SYNVYYNNYYYPISRDEYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPY CMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAADSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYA DSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSSGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH
413	T017000001	EVQLVESGGGLVQGGGSLSLSCAASGRTFSSYAMAWFRQPPGKEREFVASISWSGENTNYYRNSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAA KIAKTYPDNWYWTKSNNYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQGGGSLSLSCAASGRTFSSY AMAWFRQPPGKEREFVASISWSGENTNYRNSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAKIAKTYPDNWYWTKSNNYNYWGQGTLVTVSS
414	T017000002	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITTIGDTTDYADYAKGRFTISR DEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSS
415	T017000003	EVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAA DSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITTIGDTTD YADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSS
416	T017000006	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSDVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTIS QDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAADSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSS
417	T017000007	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITTIGDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSV KNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
418	T017000008	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITTIGDTTDYADYAKGRF TISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSS

SEQ	ID	Secuencia
419	T0170000009	EVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAA DSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIG DTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSS
420	T0170000012	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSDVQLQASGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGR FTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAADSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSS
421	T0170000013	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIGDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSIS EDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
422	T0170000014	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAP GKERGLVATITIGDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSS
423	T0170000015	EVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAA DSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSV HKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIGDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSS
424	T0170000018	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAP GKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAADSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSS
425	T0170000019	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIGDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
426	T0170000023	EVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAA DSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSSGGGGSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGT FSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
427	T0170000025	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIGDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSDVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKE REGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAADSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSS
428	T0170000029	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVYKINFLGWHRQAPGKEREKVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
429	T0170000030	EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGAVHKINFLGWYRQTPEKEREMVATITIGDEVDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMTSLKPEDTAVYVCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
430	T0170000031	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITSGETFKINIWGWYRQAPGKQRELVASLTIGGATNYADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNAK SRLYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS

SEQ	ID	Secuencia
431	T0170000032	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHLLNFLGWYRQAPGKEREMVAHITIADATDYAHFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRAG SRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
432	T0170000033	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITSGETFKINIWGWYRQAPGKQRELVASLTIGGATDYADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKAEDTAVYFCNAK SRLYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
433	T0170000035	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGEVYKINFLGWYRQAPGKEREKVAHITIADAADYADFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRAG SRIWPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
434	T0170000037	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAF SRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
435	T0170000038	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGEIGRINFYRWYRQAPGNQREVVATITIADKTDYADSAKGRFTISRDESRNMVYLQMSSLKPEDTAVYFCHAG SRLYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGCGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
436	T0170000041	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHITIGDQADYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
437	T0170000042	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAPAKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAY SRIYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
438	T0170000044	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERELVATITIGDTTDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
439	T0170000046	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAPGKERGLVATITIGDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAG SRLYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
440	T0170000049	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAPAKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYLCRAY SRIYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
441	T0170000050	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAP GKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSS
442	T0170000051	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGEIGRINFYRWYRQAP GNQREVVATITIADKTDYADSAKGRFTISRDESRNMVYLQMSSLKPEDTAVYFCHAGSRLYPYDYWGQGTLVTVSS

SEQ	ID	Secuencia
443	T0170000054	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAP GKEREKVAHITIGDQADYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRIYPYDYWGQGTLVTVSS
444	T0170000055	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAP AKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAYSRIYPYDYWGQGTLVTVSS
445	T0170000058	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAP GKERELVATITIGDTTDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSS
446	T0170000060	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHKINFLGWYRQAP GKERGLVATITIGDTTDYADYAKGRFTISRDEARNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSS
447	T0170000063	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVYKINFLGWHRQAP GKEREKVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAGSRIYPYDYWGQGTLVTVSS
448	T0170000064	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGEVYKINFLGWYRQAP GKEREKVAHITIADADYADFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRAGSRIWPYDYWGQGTLVTVSS
449	T0170000065	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINFLGWYRQAP GKEREMVAHITIADATDYAEFAKGRFTISRDEPKNMVYLQMNSLKPEDTAVYLCRAGSRIYPYNYWGQGTLVTVSS
450	T0170000068	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITSGETFKINIWGWYRQAP GKQRELVASLTIGGATNYADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
451	T0170000069	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSVHLLNFLGWYRQAP GKEREMVAHITIADATDYAHFAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLRPEDTAVYFCRAGSRIYPYDYWGQGTLVTVSS
452	T0170000070	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITSGETFKINIWGWYRQAP GKQRELVASLTIGGATDYADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKAEDTAVYYCNAKSRLYPYDYWGQGTLVTVSS
453	T0170000073	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAPAKEREMVAHITIGDATSYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQLNNLKPEDTAVYFCRAY SRIYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
454	T0170000074	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAF SRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS

SEQ	ID	Secuencia
455	T0170000075	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAP AKEREMVAHITIGDATSYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQLNNLKPEDTAVYFCRAYSRIYPYNYWGQGTLVTVSS
456	T0170000076	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAP GKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSS
457	T0170000077	EVQLVESGGDLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREMVAHITIADATDYAEFAKGRFTISRDEPKNMVYLQMNSLKPEDTAVYLCRAG SRIYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKE REFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAVRQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
458	T0170000078	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAP AKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYLCRAYSRIYPYNYWGQGTLVTVSS
459	T0170000079	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGAVHKINFLGWYRQTP EKEREMVATITIGDEVDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMTSLKPEDTAVYYVCRAGSRLYPYNYWGQGTLVTVSS
460	T0170000093	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAP GKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNS LRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
461	T0170000095	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCITSGETFKININGWYRQAP GKQRELVASLTIGGATNYADSVKGRFTISEDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYFCNAKSRLYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNS LRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
462	T0170000102	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAPGKQRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRF RTAAQGTDYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGK EREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSS
463	T0170000103	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAF SRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAPGKQ RELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRFRTAAQGTDYWGQGTLVTVSS
464	T0170000107	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVMGWFRQATGKEREFVATIAWDSGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVHLQMNSLKPEDTAVYYCAA SYNVYYNNYYYPISRDEYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGDTYGSY WMGWFRQAPGKEREGVAAINRGGGYTVYADSVKGRFTISRDTAKNTVYLQMNSLRPDDTADYYCAASGVLGGLHEDWFNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTIS RDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSS

SEQ	ID	Secuencia
465	T017000109	EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAA DSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGDT YGSYWMGWFRQAPGKEREGVAAINRGGGYTVYADSVKGRFTISRDTAKNTVYLQMNSLRPDDTADYYCAASGVLGGLHEDWFNYWGQGTLVTVSSGGG GSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGR FTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSS
466	T017000110	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVMGWFRQATGKEREFVATIAWDSGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVHLQMNSLKPEDTAVYYCAA SYNVYYNNYYYPISRDEYDYWGQGTLVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPY CMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAADSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTLVT VSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYA DSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSS
467	T017000104	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAP AKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAYSRIYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGG GGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNS LRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
468	T017000105	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAP GKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTISRDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSS
469	T017000106	DVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAISWSDGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAA DLTSTNPGSYIYIWAYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINIL GWYRQAPAKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAYSRIYPYNYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGS GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGNSLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTT LYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVSS
470	T017000083	DVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINILGWYRQAP AKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAYSRIYPYNYWGQGTLVTVSS
471	T017000088	DVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAISWSDGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAA DLTSTNPGSYIYIWAYDYWGQGTQVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGDVHKINIL GWYRQAPAKEREMVAHITIGDATDYADSAKGRFTISRDEAKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAYSRIYPYNYWGQGTLVTVSS
486	T017000108	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVMGWFRQATGKEREFVATIAWDSGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVHLQMNSLKPEDTAVYYCAA SYNVYYNNYYYPISRDEYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGDTYGSY WMGWFRQAPGKEREGVAAINRGGGYTVYADSVKGRFTISRDTAKNTVYLQMNSLRPDDTADYYCAASGVLGGLHEDWFNYWGQGTLVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTIS RDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGN SLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVS SGAADYKDHDGDYKDHDIDYKDDDDKGAAHHHHHH

SEQ	ID	Secuencia
487	T017000108	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVMGWFRQATGKEREFVATIAWDSGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVHLQMNSLKPEDTAVYYCAA SYNVYYNNYYYPISRDEYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGDTYGSY WMGWFRQAPGKEREGVAAINRGGGYTVYADSVKGRFTISRDTAKNTVYLQMNSLRPDDTADYYCAASGVLGGLHEDWFNYWGQGTLVTVSSGGGGSGG GGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCVASGDVHKINFLGWYRQAPGKEREKVAHISIGDQTDYADSAKGRFTIS RDESKNMVYLQMNSLKPEDTAVYFCRAFSRIYPYDYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPGN SLRLSCAASGFTFSSFGMSWVRQAPGKGLEWVSSISGSGSDTLYADSVKGRFTISRDNAKTTLYLQMNSLRPEDTAVYYCTIGGSLSRSSQGTLVTVS S

Tabla A-6: Secuencias de componentes del complejo TCR. "SEQ" se refiere a la SEQ ID NO dada; "ID" se refiere al nombre de identificación; "Secuencia" indica la secuencia de aminoácidos

SEQ	ID	SECUENCIA
344	CD3 delta humano (P04234)	MEHSTFLSGLVLATLLSQVSPFKIPIEELEDRVFVNCNTSITWVEGTVGTLLSDITRLDLGKRILDPRGIYRCNGTDIYKDKESTVQVHYRMCQSCVE LDPATVAGIIVTDVIATLLLALGVFCFAGHETGRLSGAADTQALLRNDQVYQPLRDRDDAQYSHLGGNWARNK
345	CD3 delta humano (P09693)	MEQGKGLAVLILAIILLQGTLAQSIKGNHLVKVYDYQEDGSVLLTCDAEAKNITWFKDGKMIGFLTEDKKKWNLGSNAKDPRGMYQCKGSQNKSKPLQ VYYRMCQNCIELNAATISGFLFAEIVSIFVLAVGVYFIAGQDGVRQSRASDKQTLLPNDQLYQPLKDREDDQYSHLQGNQLRRN
346	CD3 épsilon humano (P0 7766)	MQSGTHWRVLGLCLLSVGVWGQDGNEEMGGITQTPYKVSISGTTVILTCPQYPGSEILWQHNDKNIGGDEDDKNIGSDEDHLSLKEFSELEQSGYYVC YPRGSKPEDANFYLYLRARVCENCMEMDVMSVATIVIVDICITGGLLLLVYYWSKNRKAKAKPVTRGAGAGGRQRGQNKERPPPVPNPDYEPIRKGQR DLYSGLNQRRI
347	CD3 zeta humano (P20963)	MKWKALFTAAILQAQLPITEAQSFGLLDPKLCYLLDGILFIYGVILTALFLRVKFSRSADAPAYQQGQNQLYNELNLGRREEYDVLDKRRGRDPEMGG KPQRRKNPQEGLYNELQKDKMAEAYSEIGMKGERRRGKGHDGLYQGLSTATKDTYDALHMQALPPR
348	Dominio constante de TCR alfa humano (P01848)	PNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDV KLVEKSFETDTNFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSSLNFQNLSVIG
349	Dominio constante de TCR beta humano (P01850)	EDLNKVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQV QFYGLSENDEWTVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDFQDRAKPVTQI
393	Dominio variable de TCR alfa humano derivado de 2IAN	IQVEQSPPDLILQEGANSTLRCNFSDSVNNLQWFHQNPWGQLINLFYIPSGTKQNGRLSATTVATERYSLLYISSSQTTDSGVYFCAALIQGAQKLVF GQGTRLTIN
476	Dominio variable de TCR beta humano derivado de 2IAN	NAGVTQTPKFRILKIGQSMTLQCTQDMNHNYMYWYRQDPGMGLKLIYYSVGAGITDKGEVPNGYNVSRSTTEDFPLRLELAAPSQTSVYFCASTYHGT GYFGEGSWLTVV

ES 2 754 427 T3

SEQ	ID	SECUENCIA
394	Dominio variable de TCR alfa humano derivado de 2XN9	QLLEQSPQFLSIQEGENLTVYCNSSSVFSSLQWYRQEPGEGPVLLVTVVTGGEVKKLKRLTFQFGDARKDSSLHITAAQPGDTGLYLCAGAGSQGNLI FGKGTKLSVK
477	Dominio variable de TCR beta humano derivado de 2XN9	DGGITQSPKYLFRKEGQNVTLSCEQNLNHDAMYWYRQDPGQGLRLIYYSQIVNDFQKGDIAEGYSVSREKKESFPLTVTSAQKNPTAFYLCASSSRSS YEQYFGPGTRLTVT
395	Dominio variable de TCR alfa humano derivado de 3TOE	GDAKTTQPNSMESNEEEPVHLPCNHSTISGTDYIHWYRQLPSQGPEYVIHGLTSNVNNRMASLAIAEDRKSSTLILHRATLRDAAVYYCTVYGGATNK LIFGTGTLLAVQ
478	Dominio variable de TCR beta humano derivado de 3TOE	VVSQHPSWVIAKSGTSVKIECRSLDFQATTMFWYRQFPKQSLMLMATSNEGSKATYEQGVEKDKFLINHASLTLSTLTVTSAHPEDSSFYICSARGGS YNSPLHFGNGTRLTVT
396	Dominio constante de TCR alfa de macaco cangrejero	PYIQNPDPAVYQLRGSKSNDTSVCLFTDFDSVMNVSQSKDSDVHITDKTVLDMRSMDFKSNGAVAWSNKSDFACTSAFKDSVIPADTFFPSPESSC
397	Dominio constante de TCR beta de mono rhesus	EDLKKVFPPKVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALEDSRYSLSSRLRVSATFWHNPRNHFRCQV QFYGLSEDDEWTEDRDKPITQKISAEAWGRADC
398	Dominio variable de TCR alfa de mono rhesus	QQIMQIPQYQHVQEGEDFTTYCNSSTTLSNIQWYKQRPGGHPVFLIMLVKSGEVKKQKRLIFQFGEAKKNSSLHITATQTTDVGTYFCATTGVNNLFF GTGTRLTVL

SEQ	ID	SECUENCIA
399	Dominio variable de TCR beta de mono rhesus	AGPVNAGVTQTPKFQVLKTGQSMTLQCAQDMNHDYMYWYRQDPGMGLRLIHYSVGEGSTEKGEVPDGYNVTRSNTEDFPLRLESAAPSQTSVYFCASS YWTGRSYEQYFGPGTRLTVI
479	Dominio constante de TCR alfa de humano	PNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKSVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSC
480	Dominio constante de TCR beta de humano	EDLNKVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFYPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYSLSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQV QFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADC
484	Dominio constante de TCR alfa de humano (P01848)	PNIQNPDPAVYQLRDSKSSDKSVCLFTDFDSQTNVSQSKDSDVYITDKTVLDMRSMDFKSNSAVAWSNKSDFACANAFNNSIIPEDTFFPSPESSCDV KLVEKSFETDTNLNFQNLSVIGFRILLLKVAGFNLLMTLRLWSS
485	Dominio constante de TCR beta de humano	EDLNKVFPPEVAVFEPSEAEISHTQKATLVCLATGFFPDHVELSWWVNGKEVHSGVSTDPQPLKEQPALNDSRYCLSSRLRVSATFWQNPRNHFRCQV QFYGLSENDEWTQDRAKPVTQIVSAEAWGRADCGFTSVSYQQGVLSATILYEILLGKATLYAVLVSALVLMAMVKRKDF

Tabla A-7: Secuencias de elementos estructurales de unión de TAA y Nanobodies de control. "SEQ" se refiere a una SEQ ID NO dada; "ID" se refiere al nombre de identificación; "Secuencia" indica la secuencia de aminoácidos

SEQ	ID	SECUENCIA
350	HER2005F07 (Q108L)	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSINTMGWYRQAPGKQRELVALISSIGDTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCKRF RTAAQGTDYWGQGTLVTVSS
351	HER2047D05 (L108Q)	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFGFNDMAWYRQAPGKQRELVALISRVGVTSSADSVKGRFTISRVNAKDTVYLQMNSLKPEDTAVYYCYMD QRLDGSTLAYWGQGTQVTVSS
352	EGFR009G08	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVVAINWSSGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCAA GYQINSGNYNFKDYEYDYWGQGTQVTVSS
353	NbCEA5 (CEA#1)	EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGDTYGSYWMGWFRQAPGKEREGVAAINRGGGYTVYADSVKGRFTISRDTAKNTVYLQMNSLRPDDTADYYCAA SGVLGGLHEDWFNYWGQGTLVTVSS
354	T023200005 (CEA#5)	EVQLVESGGGSVQAGGSLRLSCAASGDTYGSYWMGWFRQAPGQEREAVAAINRGGGYTVYADSVKGRFTISRDNAKNTLYLQMNSLRPDDTADYYCAA SGVLGGLHEDWFNYWGQGTLVTVSS
355	7D12 (EGFR#1)	EVQLVESGGGSVQTGGSLRLTCAASGRTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNAKNTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAA AAGSAWYGTLYEYDYWGQGTLVTVSS
356	T023200033 (EGFR#33)	EVQLVESGGGSVQAGGSLRLTCAASGSTSRSYGMGWFRQAPGKEREFVSGISWRGDSTGYADSVKGRFTISRDNAKNTVDLQMNSLKPEDTAIYYCAA AAGSTWYGTLYEYDYWGQGTLVTVSS
357	20CD019C07	EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCTFSGGTFSSYTMGWFRQAPGKEREFVAEVRWGGVTTYSNSLKDRFSISEDSVKNAVYLQMNSLKPEDTAVYYCAAV RQMYMTVVPDYWGQGTLVTVSS
358	EGFR038G07	EVQLVESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTFSSYVMGWFRQATGKEREFVATIAWDSGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVHLQMNSLKPEDTAVYYCAA SYNVYYNNYYYPISRDEYDYWGQGTLVTVSS
359	cAblys3	DVQLQASGGGSVQAGGSLRLSCAASGYTIGPYCMGWFRQAPGKEREGVAAINMGGGITYYADSVKGRFTISQDNAKNTVYLLMNSLEPEDTAIYYCAA DSTIYASYYECGHGLSTGGYGYDSWGQGTQVTVSS
360	RSV007B02	EVQLVESGGGLVQAGDSLRLSCAASGRTFSSYAMGWFRQAPGKEREFVAAISWSDGSTYYADSVKGRFTISRDNAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCAA DLTSTNPGSYIYIWAYDYWGQGTQVTVSS

Tabla A-8: Secuencias para CDR y de entramado de elementos estructurales de unión de TAA, más combinaciones preferidas según se proporciona en la fórmula I, a saber, FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. "SEQ" se refiere a la SEQ ID NO. La primera columna se refiere a la SEQ ID NO del ISV completo, es decir, FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4. CDR1, CDR2 y CDR3 se determinaron según Kontermann, 2010.

SEQ	Nanobody	SEQ	FR1	SEQ	CDR1	SEQ	FR2	SEQ	CDR2	SEQ	FR3	SEQ	CDR3	SEQ	FR4
353	NbCEA5 (CEA#1)	367	EVQLVESGGGSVQ AGGSLRLSCAAS	361	GDTYGSY WMG	369	WFRQAPGKE REGVA	363	AINRGG GYTV	372	YADSVKGRFTISRDTAKNTV YLQMNSLRPDDTADYYCAA	365	SGVLGGLHED WFNY	375	WGQGTL VTVSS
354	T023200005 (CEA#5)	367	EVQLVESGGGSVQ AGGSLRLSCAAS	361	GDTYGSY WMG	370	WFRQAPGQE REAVA	363	AINRGG GYTV	373	YADSVKGRFTISRDNAKNTL YLQMNSLRPDDTADYYCAA	365	SGVLGGLHED WFNY	375	WGQGTL VTVSS
357	20CD019C07	368	EVQLVESGGGLVQ PGGSLRLSCTFS	362	GGTFSSY TMG	371	WFRQAPGKE REFVA	364	EVRWGG VTT	374	YSNSLKDRFSISEDSVKNAV YLQMNSLKPEDTAVYYCAA	366	VRQMYMTVVP DY	375	WGQGTL VTVSS

Tabla C-6: CE50 (M) de polipéptidos de unión a TCR multiespecíficos para la unión a CHO-K1 TCR(2XN9)/CD3 humano, células T humanas primarias purificadas y células de Ramos tal como se determina mediante citometría de flujo.

Agrupación	ID de muestra	CHO-K1 huTCR(2XN9)/CD3			células T humanas			células de Ramos		
		CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
A	T017000055	1.1E-07	9.8E-08	1.3E-07	1.3E-07	3.0E-08	5.6E-07	1.8E-09	1.6E-09	1.9E-09
A	T017000042	1.7E-08	1.4E-08	1.9E-08	2.3E-07	2.0E-07	2.6E-07	2.0E-08	1.8E-08	2.2E-08
A	T017000076	7.8E-08	7.1E-08	8.6E-08	1.3E-07	1.3E-08	1.3E-06	1.8E-09	1.7E-09	2.0E-09
A	T017000074	1.6E-08	1.5E-08	1.7E-08	1.9E-07	1.7E-07	2.1E-07	1.6E-08	1.4E-08	1.7E-08
B	T017000068	1.9E-07	1.5E-07	2.3E-07	6.2E-09	4.2E-09	8.9E-09	1.8E-09	1.7E-09	2.0E-09
B	T017000031	2.0E-08	1.8E-08	2.3E-08	3.5E-07	3.1E-07	4.0E-07	2.3E-08	2.0E-08	2.5E-08
C	T017000051	4.6E-07	4.1E-07	5.1E-07	>1E-07	/	/	2.7E-09	2.4E-09	2.9E-09
C	T017000038	1.7E-08	1.6E-08	1.9E-08	>1E-07	/	/	2.1E-08	1.9E-08	2.3E-08

Tabla C-7: CI50 (M) de los polipéptidos multiespecíficos en el ensayo de destrucción de Ramos mediada por células T basado en citometría de flujo usando una razón de efector con respecto a diana de 10 a 1.

Agrupación	ID de constructo monovalente	ID de constructo (CD20xTCR)	n	CI50 (M)	% de lisis	% de lisis (desv. est.)	ID de constructo (TCRxCD20)	n	CI50 (M)	% de lisis	% de lisis (desv. est.)
A	T0170056G05	T017000076	8	3.0E-10	25	14	T017000074	6	9.2E-10	18	11
A	T0170055A02	T017000055	19	5.3E-10	29	13	T017000042	5	5.7E-09	17	11
B	T0170055C07	T017000068	7	1.0E-09	22	7	T017000031	3	1.1E-09	29	9
C	T0170061G01	T017000051	2	5.7E-10	16	2	T017000038	2	2.7E-09	27	4

Tabla C-12: Valores de CE50 de los polipéptidos con semivida extendida en células CHO-K1 TCR(2XN9)/CD3 humanas, células T humanas primarias y células de Ramos tal como se determina mediante citometría de flujo.

Agrupación	ID de muestra	CHO-K1-K1 huTCR (2XN9)/CD3			células T humanas			células de Ramos		
		CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	CE50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
A	T017000093	7.7E-08	7.0E-08	8.4E-08	4.8E-07	4.8E-08	4.8E-06	1.5E-09	1.3E-09	1.6E-09
B	T017000095	2.7E-07	2.2E-07	3.4E-07	2.2E-07	5.1E-08	9.8E-07	3.7E-09	3.3E-09	4.1E-09

ES 2 754 427 T3

Tabla C-15: Valores de CI50 de polipéptidos de unión a HER2/TCR en el ensayo de destrucción de tumor positivo para HER2 mediada por células T.

	citotoxidad basada en xCELLigence (lectura 18 h) - SKBR3 (E/T=15:1)									
Agrupación	ID de constructo monovalente	ID de constructo (HER2xTCR)	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	ID de constructo (TCRxHER2)	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
A	TO170056G05	TO17000102	1	1.4E-11	1.1E-11	1.7E-11	TO17000103	1	3.8E-12	3.2E-12	4.7E-12
	citotoxidad basada en xCELLigence (lectura 18 h) - MCF-7 (E/T=15:1)									
Agrupación	ID de constructo monovalente	ID de constructo (HER2xTCR)	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	ID de constructo (TCRxHER2)	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
A	TO170056G05	TO17000102	1	1.2E-10	9.0E-11	1.0E-10	TO17000103	1	5.9E-11	5.0E-11	7.0E-11
	citotoxidad basada en xCELLigence (lectura 18 h) - MDA-MB-468(E/T=15:1)									
Agrupación	ID de constructo monovalente	ID de constructo (HER2xTCR)	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	ID de constructo (TCRxHER2)	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
A	TO170056G05	TO17000102	1	Sin ajuste			TO17000103	1	Sin ajuste		

Tabla C-16: CI50 (M) de polipéptidos de unión a HER2/TCR para la secreción de IFN-γ por células T en el ensayo de destrucción dependiente de HER2 basado en xCELLigence mediada por células T humanas.

ID de constructo monovalente	ID de constructo (HER2xTCR)	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	ID de constructo (TCRxHER2)	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
TO170056G05	TO17000102	1	2.8E-11	1.4E-11	5.6E-11	TO17000103	1	1.1E-10	5.6E-11	2.2E-10

ES 2 754 427 T3

Tabla C-17: CI50 (M) de y % de lisis por los constructos multiespecíficos de unión a TCR/CD20 en el ensayo de destrucción de células B (Ramos) mediada por células T de macaco cangrejero para evaluar la funcionalidad de macaco cangrejero del elemento estructural de TCR.

Agru-pación	ID de constructo monovalente	ID de constructo (CD20xTCR)	n	CI50 (M)	% de lisis	% de lisis (desv. est.)	ID de constructo (TCRxCD20)	n	CI50 (M)	% de lisis	% de lisis (desv. est.)
A	T0170055A02	T017000055	2	5.69E-10	17	6	T017000042	1	1.7E-10	18	
A	T0170056G05	T017000076	2	3.09E-10	20	1	T017000074	2	2.4E-10	31	2.21
B	T0170055C07	T017000068	1				T017000031	1	7.9E-10	10	

Tabla C-18: CI50 (M) de los polipéptidos multiespecíficos de unión a TCR/CD20 en el ensayo de destrucción de CD20 humano CHO-K1 basado en xCELLigence mediada por células T de macaco cangrejero.

Agru-pación	ID de constructo monovalente	ID de constructo (CD20xTCR)	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	ID de constructo (TCRxCD20)	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
A	T0170055A02	T017000055	1	9.9E-10	4.2E-10	2.3E-09	T017000042	1	8.9E-10	6.0E-10	1.3E-09
A	T0170056G05	T017000076	1	6.7E-10	2.2E-10	2.0E-09	T017000074	1	1.2E-10	6.4E-11	2.3E-10
B	T0170055C07	T017000068		ND	ND	ND	T017000031	1	1.2E-09	7.2E-10	1.9E-09

Tabla C-23: CI50 (M) de los polipéptidos multiespecíficos de unión a TCR/CD20 en el ensayo de destrucción de SKBR3 basado en xCELLigence mediada por células T de macaco cangrejero.

ID de constructo monovalente	ID de constructo (HER2xTCR)	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	ID de constructo (TCRxHER2)	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
T0170056G05	T017000102	1	4.6E-11	1.3E-11	1.7E-10	T017000103	1	1.2E-11	7.3E-12	2.1E-11

ES 2 754 427 T3

Tabla 31: CI50 (M) de los polipéptidos multiespecíficos en el ensayo de destrucción basado en xCELLigence usando una razón de efector con respecto a diana de 15. Se analizaron los datos después de 50-60 h.

	LoVo				LS174T				HER14			
ID de constructo	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%	n	CI50 (M)	LCI de 95%	UCI de 95%
T017000107	1	6.1E-11	5.4E-11	7.0E-11	1	5.3E-09	4.2E-09	6.6E-09	1	1.4E-10	1.2E-10	1.6E-10
T017000109	1	2.0E-09	1.8E-09	2.2E-09	1	3.6E-08	2.7E-08	4.9E-08	1	/	/	/
T017000110	1	6.0E-10	5.3E-10	6.8E-10	1	8.9E-09	5.8E-09	1.4E-08	1	4.2E-10	3.7E-10	4.7E-10

ES 2 754 427 T3

Lista de secuencias

<110> Ablynx N.V.

<120> POLIPÉPTIDOS DE RECLUTAMIENTO DE CÉLULAS T BASADOS EN LA REACTIVIDAD DE TCR ALFA/BETA

<130> P15-005-PCT-1

<150> Documento US 62/160.757
<151> 13-05-2015

<150> Documento US 62/319.486
<151> 07-04-2016

<160> 487

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 1

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 2
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 2

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 3
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 3

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

Ser Leu Arg Leu Pro Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 4
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 4

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 5
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 5

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 6
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 6

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 7

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 7

```
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 Val Ser Gly Ser Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ser His Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 8
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 8

```
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 Ala Ala Ser Gly Ala Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Glu Lys Glu Arg Glu Met Val
        35                  40                  45

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

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 9
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 9

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 10

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 10

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 11
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 11

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 12
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 12

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Gln Ala Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 13

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 13

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 14
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 14

```
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 Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Ser Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala His Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 15
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 15

```
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 Arg Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Val Tyr Ala Glu Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 16

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 16

```
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 Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Cys Pro Gly Lys Glu Arg Glu Met Val
        35                  40                  45

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ser His Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 17
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 17

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

Ser Leu Arg Pro Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala His Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 18
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 18

```
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 Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala His Phe Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 19

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 19

```
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 Ala Ala Ser Gly Ala Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Glu Lys Glu Arg Glu Met Val
        35                  40                  45

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

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 20
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 20

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

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

Phe Leu Gly Trp His Arg Gln Pro Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val
        35                  40                  45

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Val Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 21
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 21

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val His Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 22

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 22

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 23
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 23

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Val Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 24
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 24

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Gly Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 25

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 25

```
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 Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Val Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 26
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 26

```
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 Ala Ala Ser Gly Ala Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 27
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 27

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Val Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 28

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 28

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Ser Ile Ser Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 29
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 29

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 30
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 30

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 31

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 31

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 32
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 32

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 33
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 33

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 34

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 34

```
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 Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ser His Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 35
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 35

```
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 Val Ser Gly Ser Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ser His Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 36
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 36

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

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 37

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 37

```
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 Gly Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 38
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 38

```
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 Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Val Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Gln
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 39
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 39

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 40

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 40

```
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 Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ser His Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly His Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 41
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 41

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Gln Ala Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 42
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 42

```
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 Val Ser Gly Ser Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Thr His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ser His Phe Ala Lys
    50                  55                  60
```

-

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 43
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 43

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Glu Phe Ala Lys
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Pro Lys Asn Met Val His Leu
65 70 75 80

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 44
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 44

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 45
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 45

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Arg Ile Ser Ile Ser Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 46

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 46

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Val Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 47
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 47

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

Ser Leu Lys Leu Pro Cys Ala Ala Ser Gly Ala Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Glu Lys Glu Arg Glu Met Val
        35                  40                  45

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

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 48
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 48

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

Ser Leu Gly Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala His Phe Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 49

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 49

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 50
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 50

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 51
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 51

```
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 Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gly Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 52

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 52

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

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

Phe Leu Ser Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly His Glu Arg Glu Leu Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Ala Ala Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 53
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 53

```
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 Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ser His Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 54
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 54

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Ala Ile Ser Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 55

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 55

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 56
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 56

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 57
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 57

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 58

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 58

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 59
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 59

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 60
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 60

```
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 Ala Ala Ser Gly Ala Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Glu Lys Glu Arg Glu Met Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Glu Val Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 61

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 61

```
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 Ala Ala Ser Gly Ala Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 62
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 62

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Ser Tyr Ala Gly Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

Gln Leu Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg
                85                  90                  95

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 63
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 63

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Leu Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg
                85                  90                  95

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 64

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 64

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Glu Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 65
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 65

```
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 Ala Ala Ser Gly Ala Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Glu Lys Glu Arg Glu Met Val
        35                  40                  45

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

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 66
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 66

```
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 Ala Ala Ser Gly Ala Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Glu Lys Glu Arg Glu Met Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Glu Val Ala Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 67

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 67

```
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 Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 68
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 68

```
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 Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 69
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 69

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

Ser Leu Arg Pro Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 70

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 70

```
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 Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Val Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 71
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 71

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 72
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 72

```
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 Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 73

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<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 Ala Ala Ser Gly Ser Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Val Thr Asp Tyr Ser Tyr Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 74
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 74

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 75
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 75

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 76

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 76

```
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 Ala Ala Ser Gly Ala Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Glu Lys Glu Arg Glu Met Val
        35                  40                  45

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

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

Gln Met Thr Gly Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Arg
                85                  90                  95

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 77
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 77

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

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

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

Ala His Ile Ser Ile Ser Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 78
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 78

```
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 Asp Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 79

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 79

```
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 Arg Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 80
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 80

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 81
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 81

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Glu Phe Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Pro Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 82

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 82

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 83
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 83

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 84
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 84

```
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 Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 85

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<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 Ala Ser Gly Ser Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ser His Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 86
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 86

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Glu Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 87
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 87

```
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 Glu Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

Ile Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Cys Pro Gly Lys Glu Arg Asp Met Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Leu Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 88

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 88

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 89
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 89

```
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 Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Val Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 90
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 90

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Glu Phe Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Pro Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 91

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<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 Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ser His Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 92
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 92

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

Ser Pro Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Gln Ala Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 93
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 93

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 94

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 94

```
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 Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Val Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 95
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 95

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 96
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 96

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Ser Ile Ser Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Glu Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 97

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 97

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

Ser Leu Arg Pro Ser Cys Ala Ala Ser Gly Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Val Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 98
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 98

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

Ser Leu Arg Pro Ser Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Gln Ala Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 99
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 99

```
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 Glu Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Glu Thr Gln Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Leu Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 100

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 100

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 101
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 101

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 102
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 102

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 103

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 103

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 104
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 104

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 105
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 105

```
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 Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Ser Leu Thr Ile Gly Gly Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Glu Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Lys Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 106

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 106

```
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 Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Lys Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 107
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 107

```
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 Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Lys Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 108
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 108

```
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 Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Ser Leu Thr Ile Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Glu Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Lys Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 109

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 109

```
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 Ile Thr Ser Gly Gln Thr Phe Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Lys Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 110
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 110

```
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 Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Val Asn
            20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Lys Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 111
<211> 118
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 111

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

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile
            20                  25                  30

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

Val Ala Ser Leu Thr Ile Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val
    50                  55                  60
Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Glu Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr
65                  70                  75                  80

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

Asn Ala Lys Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr
            100                 105                 110

Gln Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 112

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 112

```
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 Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Lys Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Asp Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 113
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<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 Leu Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Val Asn
            20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Lys Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 114
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<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 Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Ser Leu Thr Ile Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Glu Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Lys Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 115

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 115

```
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 Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Lys Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 116
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 116

```
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 Glu Ile Gly Arg Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Tyr Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gln Arg Glu Val Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Thr Ile Ala Asp Lys Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 117
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 117

```
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 Glu Ile Gly Arg Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Tyr Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gln Arg Gly Val Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Thr Ile Ala Asp Lys Ile Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser Arg Asn Met Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 118

<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 118

```
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 Glu Ile Gly Arg Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Tyr Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gln Arg Glu Val Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Thr Ile Ala Asp Lys Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 119
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 119

```
Gly Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly
1               5                   10
```

<210> 120
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 120

```
Gly Ser Val His Leu Leu Asn Phe Leu Gly
1               5                   10
```

<210> 121
<211> 10
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 121

Gly Ala Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly
1 5 10

<210> 122
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 122

Gly Asp Val His Lys Ile Asn Ile Leu Gly
1 5 10

<210> 123
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 123

Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly
1 5 10

<210> 124
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 124

Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn Ile Trp Gly
1 5 10

<210> 125
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 125

Gly Asp Val His Lys Ile Asn Val Leu Gly
1 5 10

<210> 126
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 126

Gly Glu Val Tyr Lys Ile Asn Phe Leu Gly
1 5 10

<210> 127
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 127

Gly Gly Val His Lys Ile Asn Ile Leu Gly
1 5 10

<210> 128
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 128

Gly Gln Thr Phe Lys Ile Asn Ile Trp Gly
1 5 10

<210> 129
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 129

Gly Ser Val Tyr Lys Ile Asn Phe Leu Ser
1 5 10

<210> 130
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 130

Gly Glu Ile Gly Arg Ile Asn Phe Tyr Arg
1 5 10

<210> 131
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 131

Gly Glu Thr Phe Lys Val Asn Ile Trp Gly
1 5 10

<210> 132
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 132

Gly Asp Val Tyr Lys Ile Asn Phe Leu Gly
1 5 10

<210> 133
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 133

Gly Glu Val His Lys Ile Asn Ile Leu Gly
1 5 10

<210> 134
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 134

Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp
1 5

<210> 135
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 135

Thr Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp
1 5

<210> 136
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> CDR2

<400> 136

His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp
1 5

<210> 137
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 137

Thr Ile Thr Ile Gly Asp Asp Val Asp
1 5

<210> 138
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 138

His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp
1 5

<210> 139
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 139

His Ile Thr Ile Gly Asp Gln Ala Asp
1 5

<210> 140
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 140

His Ile Ser Ile Ala Asp Ala Thr Asp
1 5

<210> 141
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 141

His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Val
1 5

<210> 142
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 142

Ser Leu Thr Ile Gly Gly Ala Thr Asp
1 5

<210> 143
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 143

His Ile Thr Ile Gly Asp Glu Val Asp
1 5

<210> 144
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 144

His Ile Thr Ile Gly Asp Val Thr Asp
1 5

<210> 145
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 145

Ser Leu Thr Ile Gly Gly Ala Thr Asn
1 5

<210> 146
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 146

His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asn
1 5

<210> 147
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 147

His Ile Thr Ile Ala Asp Val Ala Asp
1 5

<210> 148
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 148

Thr Ile Thr Ile Gly Asp Glu Val Asp
1 5

<210> 149
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 149

His Ile Ser Ile Ser Asp Gln Thr Asp
1 5

<210> 150
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 150

His Ile Thr Ile Gly Asp Gln Thr Asp
1 5

<210> 151
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 151

His Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp
1 5

<210> 152
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 152

Arg Ile Ser Ile Ser Asp Gln Thr Asp
1 5

<210> 153
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 153

His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp
1 5

<210> 154
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 154

His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Ala Asp
1 5

<210> 155
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 155

Thr Ile Thr Ile Gly Asp Ala Ala Asp
1 5

<210> 156
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 156

His Ile Ala Ile Ser Asp Gln Thr Asp
1 5

<210> 157
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 157

Thr Ile Thr Ile Ala Asp Lys Thr Asp
1 5

<210> 158
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 158

Thr Ile Thr Ile Ala Asp Lys Ile Asp
1 5

<210> 159
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 159

His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Ser
1 5

<210> 160
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 160

Thr Ile Thr Ile Gly Asp Glu Val Ala
1 5

<210> 161
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 161

His Ile Thr Ile Ala Asp Val Thr Asp
1 5

<210> 162
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 162

His Ile Thr Ile Ala Asp Gln Ala Asp
1 5

<210> 163
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 163

Thr Ile Thr Ile Gly Asp Glu Thr Gln
1 5

<210> 164
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 164

Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr
1 5

<210> 165
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 165

Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr
1 5

<210> 166
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 166

Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr
1 5

<210> 167
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 167

Lys Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr
1 5

<210> 168
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 168

Lys Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr
1 5

<210> 169
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 169

Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr
1 5

<210> 170
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 170

Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr
1 5

<210> 171
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 171

Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr
1 5

<210> 172

<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 172

Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr
1 5

<210> 173
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 173

Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Ser Tyr
1 5

<210> 174
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 174

Leu Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr
1 5

<210> 175
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 175

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
20 25

<210> 176
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 176

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

Ser Leu Arg Leu Pro Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 177
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 177

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 Val Ser
20 25

<210> 178
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 178

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 Ala Ala Ser
20 25

<210> 179
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<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 Arg Ala Ser
20 25

<210> 180
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 180

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 181
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 181

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
20 25

<210> 182
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 182

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 183
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 183

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

Ser Leu Arg Pro Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 184
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 184

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 Ile Thr Ser
20 25

<210> 185
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 185

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 186
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 186

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

Ser Ala Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser
20 25

<210> 187
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 187

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

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 188
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 188

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 189
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 189

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 190
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 190

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

Ser Leu Lys Leu Pro Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 191
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 191

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

Ser Leu Gly Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 192
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 192

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 193
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 193

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 194
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 194

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

Ser Leu Arg Pro Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 195
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 195

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 196
<211> 26
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 196

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

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ile Thr Ser
20 25

<210> 197
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 197

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser
20 25

<210> 198
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 198

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 199
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 199

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 Leu Thr Ser
20 25

<210> 200
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 200

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

Ser Pro Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser
20 25

<210> 201
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 201

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

Ser Leu Arg Pro Ser Cys Val Ala Ser
20 25

<210> 202
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 202

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 203
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 203

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val Ala
1 5 10

<210> 204
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 204

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val Ala
1 5 10

<210> 205
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 205

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Met Val Ala
1 5 10

<210> 206
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 206

Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Glu Lys Glu Arg Glu Met Val Ala
1 5 10

<210> 207
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 207

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Val Ala
1 5 10

<210> 208
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 208

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala
1 5 10

<210> 209
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 209

Trp Tyr Arg Gln Cys Pro Gly Lys Glu Arg Glu Met Val Ala
1 5 10

<210> 210

<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 210

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala
1 5 10

<210> 211
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 211

Trp His Arg Gln Pro Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala
1 5 10

<210> 212
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 212

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Arg Arg Glu Leu Val Ala
1 5 10

<210> 213
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 213

Trp His Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala
1 5 10

<210> 214
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 214

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Glu Lys Glu Arg Glu Met Val Ala
1 5 10

<210> 215
<211> 14

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 215

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Val Val Ala
1 5 10

<210> 216
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 216

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Val Val Ala
1 5 10

<210> 217
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 217

Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala
1 5 10

<210> 218
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 218

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Met Val Thr
1 5 10

<210> 219
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 219

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly His Glu Arg Glu Leu Val Ala
1 5 10

<210> 220
<211> 14
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 220

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gln Arg Glu Val Val Ala
1 5 10

<210> 221
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 221

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gln Arg Gly Val Val Ala
1 5 10

<210> 222
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 222

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Gly Met Val Ala
1 5 10

<210> 223
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 223

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu His Glu Met Val Ala
1 5 10

<210> 224
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 224

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Ala Arg Glu Arg Glu Met Val Ala
1 5 10

<210> 225
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 225

Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala
1 5 10

<210> 226
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 226

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Met Val Ala
1 5 10

<210> 227
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 227

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Ile Ala
1 5 10

<210> 228
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 228

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Ala Lys Gly Arg Glu Met Val Ala
1 5 10

<210> 229
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 229

Trp Tyr Arg Gln Val Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Val Ala
1 5 10

<210> 230
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 230

Trp Tyr Arg Gln Cys Pro Gly Lys Glu Arg Asp Met Val Ala
1 5 10

<210> 231
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 231

Trp Gln Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala
1 5 10

<210> 232
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 232

Trp Tyr Cys Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Met Val Ala
1 5 10

<210> 233
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 233

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Met Val Ala
1 5 10

<210> 234
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 234

Trp His Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Val Ala
1 5 10

<210> 235
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> FR3

<400> 235

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val His Phe Cys Arg Ala
35

<210> 236
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 236

Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 237
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 237

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 238
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 238

Tyr Ser His Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 239
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 239

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Val Cys Arg Ala
35

<210> 240
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 240

Tyr Ala Glu Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 241
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 241

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Ser Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 242
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 242

Tyr Ala His Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 243
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 243

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Glu Asp Ser Ala
1 5 10 15

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Ala Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Asn Ala
35

<210> 244
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 244

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu Thr Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Val Cys Arg Ala
35

<210> 245
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 245

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 246
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 246

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Glu Asp Ser Ala
1 5 10 15

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Asn Ala
35

<210> 247
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 247

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val His Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 248
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 248

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Phe Leu Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 249
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 249

Tyr Ala Gly Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 250
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 250

Tyr Ala Asp Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 251
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 251

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Thr Val Tyr Val Cys Arg Ala
35

<210> 252
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 252

Tyr Ala Glu Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Leu Cys Arg Ala
35

<210> 253
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 253

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15
Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 254
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 254

```
Tyr Ala Asp Phe Ala Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1               5                   10                  15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            20                  25                  30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
        35
```

<210> 255
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 255

```
Tyr Ala Glu Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Pro
1               5                   10                  15

Lys Asn Met Val His Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            20                  25                  30

Ala Val Tyr Leu Cys Arg Ala
        35
```

<210> 256
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 256

```
Tyr Ala Asp Phe Ala Lys Gly Arg Leu Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1               5                   10                  15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            20                  25                  30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
        35
```

<210> 257
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 257

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 258
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 258

Tyr Ala Asp Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gly Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 259
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 259

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Leu Tyr Phe Cys His Ala
35

<210> 260
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 260

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Ala Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 261
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 261

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser
1 5 10 15

Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys His Ala
35

<210> 262
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 262

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser
1 5 10 15

Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Gly Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys His Ala
35

<210> 263
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 263

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Glu Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 264
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 264

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Thr Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 265
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 265

Tyr Ala Gly Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Leu Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 266
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 266

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Leu Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 267
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 267

Tyr Ala Glu Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Pro
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Leu Cys Arg Ala
35

<210> 268
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 268

Tyr Ala His Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Val Cys Arg Ala
35

<210> 269
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 269

Tyr Ala Asp Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Val
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 270
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 270

Tyr Ala Asp Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr
20 25 30
Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 271
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 271

Tyr Ser Tyr Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 272
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 272

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Val Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 273
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 273

Tyr Glu Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15
Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Thr Gly Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Val Cys Arg Ala
35

<210> 274
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 274

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Glu Asp Ser Ala
1 5 10 15

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Asn Ala
35

<210> 275
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 275

Tyr Ser His Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Gly Leu Arg Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 276
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 276

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Leu Cys Arg Ala
35

<210> 277
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 277

Tyr Ala Glu Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Pro
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Val Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Leu Cys Arg Ala
35

<210> 278
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 278

Tyr Ser His Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Asn Leu Arg Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 279
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 279

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Glu Asp Ser Ala
1 5 10 15

Lys Asp Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Asn Ala
35

<210> 280
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 280

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ala
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 281
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 281

Tyr Ala Glu Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Ala
20 25 30

Ala Val Tyr Leu Cys Arg Ala
35

<210> 282
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 282

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser
1 5 10 15

Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu Lys Pro Glu Asn Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys His Ala
35

<210> 283
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 283

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 284
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 284

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala
1 5 10 15

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Gly Asp Thr
20 25 30

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala
35

<210> 285
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR4

<400> 285

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 286
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR4

<400> 286

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 287
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR4

<400> 287

Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 288
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR4

<400> 288

Trp Gly His Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 289
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR4

<400> 289

Trp Gly Arg Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 290
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR4

<400> 290

Trp Asp Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
1 5 10

<210> 291
<211> 327
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 291

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

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

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

Ala Ser Ile Ser Trp Ser Gly Glu Asn Thr Asn Tyr Arg Asn 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 Lys Ile Ala Lys Thr Tyr Pro Asp Asn Trp Tyr Trp Thr Lys
100 105 110

Ser Asn Asn Tyr Asn Tyr 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

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
                165                 170                 175

Gln Gly Gly Gly Ser Leu Ser Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr
            180                 185                 190

Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ala Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Glu
        195                 200                 205

Arg Glu Phe Val Ala Ser Ile Ser Trp Ser Gly Glu Asn Thr Asn Tyr
    210                 215                 220

Arg Asn Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg 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 Lys Ile Ala Lys Thr Tyr Pro Asp Asn Trp
            260                 265                 270

Tyr Trp Thr Lys Ser Asn Asn Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
        275                 280                 285

Val Thr Val Ser Ser Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp
    290                 295                 300

Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala
305                 310                 315                 320

Ala His His His His His His
                325
```

<210> 292
<211> 276
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 292

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

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

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
    130                 135                 140

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly
145                 150                 155                 160

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val Ala Thr Ile
                165                 170                 175

Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys Gly Arg Phe
            180                 185                 190

Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn
        195                 200                 205

Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser
    210                 215                 220

Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp
                245                 250                 255

His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His
            260                 265                 270
His His His His
        275
```

<210> 293
<211> 289
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 293

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly
            100                 105                 110

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

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu 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 Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg
                165                 170                 175

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val Ala Thr Ile Thr Ile Gly
            180                 185                 190
```

```
Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
        195                 200                 205

Arg Asp Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
    210                 215                 220

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Leu Tyr
225                 230                 235                 240

Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
                245                 250                 255

Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile
            260                 265                 270

Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His His
        275                 280                 285

His
```

<210> 294
<211> 292
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 294

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

```
Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln
        115                 120                 125

Leu Gln Ala Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
    130                 135                 140

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Ile Gly Pro Tyr Cys Met Gly
145                 150                 155                 160

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile
                165                 170                 175

Asn Met Gly Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
            180                 185                 190

Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Leu Met
        195                 200                 205

Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp
    210                 215                 220

Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly Leu Ser Thr
225                 230                 235                 240

Gly Gly Tyr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
                245                 250                 255

Ser Ser Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp
            260                 265                 270

His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His
        275                 280                 285

His His His His
    290
```

<210> 295
<211> 276
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 295

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

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

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
    130                 135                 140

Thr Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg
145                 150                 155                 160

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly
                165                 170                 175

Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Glu Asp Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
        195                 200                 205

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr
    210                 215                 220

Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp
                245                 250                 255
His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His
            260                 265                 270

His His His His
        275
```

<210> 296
<211> 280
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 296

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
    130                 135                 140

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile
145                 150                 155                 160

Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu
                165                 170                 175

Val Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala
```

180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
210 215 220

Arg Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly
245 250 255

Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly
260 265 270

Ala Ala His His His His His His
275 280

<210> 297
<211> 293
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 297

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly
100 105 110

```
Leu Ser Thr Gly Gly Tyr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln
        115                 120                 125

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val
    130                 135                 140

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
145                 150                 155                 160

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu
                165                 170                 175

Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val Ala Thr
            180                 185                 190

Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys Gly Arg
        195                 200                 205

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met
    210                 215                 220

Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly
225                 230                 235                 240

Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
                245                 250                 255

Val Ser Ser Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys
            260                 265                 270

Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His
        275                 280                 285

His His His His His
    290
```

<210> 298
<211> 296
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 298

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Asp Val Gln Leu Gln Ala Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly
    130                 135                 140

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Ile Gly Pro
145                 150                 155                 160

Tyr Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly
                165                 170                 175

Val Ala Ala Ile Asn Met Gly Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
            180                 185                 190

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
        195                 200                 205

Tyr Leu Leu Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr
    210                 215                 220

Cys Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His
225                 230                 235                 240

Gly Leu Ser Thr Gly Gly Tyr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
                245                 250                 255

Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly
            260                 265                 270
Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly
        275                 280                 285

Ala Ala His His His His His His
    290                 295
```

<210> 299
<211> 280
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 299

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            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 Pro Gly Gly Ser Leu
    130                 135                 140

Arg Leu Ser Cys Thr Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met
145                 150                 155                 160

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu
                165                 170                 175
```

```
Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg
            180                 185                 190

Phe Ser Ile Ser Glu Asp Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met
        195                 200                 205

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

Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225                 230                 235                 240

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly
                245                 250                 255

Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly
            260                 265                 270

Ala Ala His His His His His His
        275                 280
```

<210> 300
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 300

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

```
Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val Ala Thr Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 301
<211> 319
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 301

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly
            100                 105                 110

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

Val Thr Val Ser 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

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
                165                 170                 175

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
            180                 185                 190

Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala
        195                 200                 205

Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr
    210                 215                 220

Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
225                 230                 235                 240
```

```
Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
                245                 250                 255

Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr
            260                 265                 270

Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ala Ala
        275                 280                 285

Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr
    290                 295                 300

Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His His His
305                 310                 315
```

<210> 302
<211> 322
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 302

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Asp Val Gln Leu Gln
145                 150                 155                 160

Ala Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Ile Gly Pro Tyr Cys Met Gly Trp Phe
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Asn Met
        195                 200                 205

Gly Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
    210                 215                 220

Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Leu Met Asn Ser
225                 230                 235                 240

Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Ser Thr
                245                 250                 255

Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly Leu Ser Thr Gly Gly
            260                 265                 270

Tyr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        275                 280                 285

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
    290                 295                 300

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
305                 310                 315                 320

His His
```

<210> 303
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 303

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
```

260 265 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
275 280 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
290 295 300

His His
305

<210> 304
<211> 322
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 304

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly
100 105 110

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

Val Thr Val Ser 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

```
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
                165                 170                 175

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
            180                 185                 190

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
        195                 200                 205

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
    210                 215                 220

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
225                 230                 235                 240

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
                245                 250                 255

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
            260                 265                 270

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        275                 280                 285

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
    290                 295                 300

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
305                 310                 315                 320

His His
```

<210> 305
<211> 319
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 305

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30
```

```
Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu Gln Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
                165                 170                 175

Ser Gly Tyr Thr Ile Gly Pro Tyr Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Asn Met Gly Gly Gly
        195                 200                 205

Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln
    210                 215                 220

Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Leu Met Asn Ser Leu Glu Pro
225                 230                 235                 240

Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala
                245                 250                 255

Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly Leu Ser Thr Gly Gly Tyr Gly Tyr
            260                 265                 270

Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly Ala Ala
        275                 280                 285
Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr
    290                 295                 300

Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His His His
305                 310                 315
```

<210> 306
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 306

```
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 Asp Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175
```

```
Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 307
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 307

```
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 Ala Ala Ser Gly Ala Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Glu Lys Glu Arg Glu Met Val
        35                  40                  45

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

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 308
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 308

```
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 Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Lys Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205
```

```
Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 309
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 309

```
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 Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala His Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
```

```
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 310
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 310

```
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 Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Lys Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
```

```
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 311
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 311

```
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 Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140
```

```
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 312
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 312

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30
```

```
Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val
        35                  40                  45

Ala His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 313
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 313

```
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 Glu Ile Gly Arg Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Tyr Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gln Arg Glu Val Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Thr Ile Ala Asp Lys Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175
```

```
Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 314
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 314

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Gln Ala Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
```

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 315
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 315

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205
```

```
Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 316
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 316

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
```

```
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 317
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 317

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
```

245 250 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
260 265 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
275 280 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
290 295 300

His His
305

<210> 318
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 318

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 Asp Val His Lys Ile Asn
20 25 30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
50 55 60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
115 120 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
130 135 140

```
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 319
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 319

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285
Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 320
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 320

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175
```

```
Cys Ala Ala Ser Gly Glu Ile Gly Arg Ile Asn Phe Tyr Arg Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gln Arg Glu Val Val Ala Thr Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Ala Asp Lys Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ser Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys His Ala Gly Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 321
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 321

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60
```

```
Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Gln Ala Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 322
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 322

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205
```

Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
210 215 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225 230 235 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile
245 250 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
260 265 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
275 280 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
290 295 300

His His
305

<210> 323
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 323

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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln

```
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val Ala Thr Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 324
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 324

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val Ala Thr Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Leu
```

```
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 325
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 325

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val Tyr Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp His
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 326
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 326

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Glu Val Tyr Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Ala Asp Ala Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285
Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 327
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 327

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175
```

```
Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Glu Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Pro Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Leu Cys Arg Ala Gly Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 328
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 328

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60
```

```
Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn Ile Trp Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ser Leu Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Glu Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Asn Ala Lys Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 329
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 329

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Leu Leu Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205
```

```
Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala His Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 330
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 330

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
```

```
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn Ile Trp Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ser Leu Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Gly Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Glu Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Asn Ala Lys Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 331
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 331

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

Gln Leu Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg
                85                  90                  95

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
```

```
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 332
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 332

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140
```

```
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 333
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 333

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Leu Asn Asn Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285
Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 334
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 334

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175
```

```
Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 335
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 335

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Glu Phe Ala Lys
    50                  55                  60
```

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 336
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 336

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205
```

```
Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Leu Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 337
<211> 306
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 337

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
```

```
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Ala Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Thr Pro Glu Lys Glu Arg Glu Met Val Ala Thr Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Glu Val Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Arg Ala Gly Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp
        275                 280                 285

Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His
    290                 295                 300

His His
305
```

<210> 338
<211> 273
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 338

```
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 Thr Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Ala
```

<210> 339
<211> 280
<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 339

```
Asp 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

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

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

Ala Ala Asp Leu Thr Ser Thr Asn Pro Gly Ser Tyr Ile Tyr Ile Trp
            100                 105                 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145                 150                 155                 160

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
                165                 170                 175
```

```
Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys
            180                 185                 190

Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu
        195                 200                 205

Met Val Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser
    210                 215                 220

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val
225                 230                 235                 240

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe
                245                 250                 255

Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly
            260                 265                 270

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
        275                 280
```

<210> 340
<211> 456
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 340

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

```
Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        275                 280                 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    290                 295                 300

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
305                 310                 315                 320

Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
                325                 330                 335

Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
            340                 345                 350
```

```
Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala
        355                 360                 365

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr
    370                 375                 380

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val
385                 390                 395                 400

Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr
                405                 410                 415

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly
            420                 425                 430

Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly
        435                 440                 445

Ala Ala His His His His His His
    450                 455
```

<210> 341
<211> 456
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 341

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

```
Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn Ile Trp Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ser Leu Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Glu Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Asn Ala Lys Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        275                 280                 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    290                 295                 300

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
305                 310                 315                 320

Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
                325                 330                 335

Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
            340                 345                 350
```

```
Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala
        355                 360                 365

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr
    370                 375                 380

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val
385                 390                 395                 400

Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr
                405                 410                 415

Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly
            420                 425                 430

Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly
        435                 440                 445

Ala Ala His His His His His His
    450                 455
```

<210> 342
<211> 304
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 342

```
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 Ile Thr Phe Ser Ile Asn
            20                  25                  30

Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
        35                  40                  45

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

```
Arg Phe Arg Thr Ala Ala Gln Gly Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val
                165                 170                 175

Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln
            180                 185                 190

Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser Ile Gly Asp
        195                 200                 205

Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
    210                 215                 220

Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro
225                 230                 235                 240

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro
                245                 250                 255

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ala
            260                 265                 270

Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp
        275                 280                 285

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His His His
    290                 295                 300
```

<210> 343
<211> 304
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 343

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
                165                 170                 175

Ser Gly Ile Thr Phe Ser Ile Asn Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Leu Ile Ser Ser Ile Gly Asp
        195                 200                 205

Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
    210                 215                 220

Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Arg Phe Arg Thr Ala Ala Gln Gly
                245                 250                 255
Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ala
            260                 265                 270

Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp
        275                 280                 285

Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His His His
    290                 295                 300
```

<210> 344

<211> 171
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 344

```
Met Glu His Ser Thr Phe Leu Ser Gly Leu Val Leu Ala Thr Leu Leu
1               5                   10                  15

Ser Gln Val Ser Pro Phe Lys Ile Pro Ile Glu Glu Leu Glu Asp Arg
            20                  25                  30

Val Phe Val Asn Cys Asn Thr Ser Ile Thr Trp Val Glu Gly Thr Val
        35                  40                  45

Gly Thr Leu Leu Ser Asp Ile Thr Arg Leu Asp Leu Gly Lys Arg Ile
    50                  55                  60

Leu Asp Pro Arg Gly Ile Tyr Arg Cys Asn Gly Thr Asp Ile Tyr Lys
65                  70                  75                  80

Asp Lys Glu Ser Thr Val Gln Val His Tyr Arg Met Cys Gln Ser Cys
                85                  90                  95

Val Glu Leu Asp Pro Ala Thr Val Ala Gly Ile Ile Val Thr Asp Val
            100                 105                 110

Ile Ala Thr Leu Leu Leu Ala Leu Gly Val Phe Cys Phe Ala Gly His
        115                 120                 125

Glu Thr Gly Arg Leu Ser Gly Ala Ala Asp Thr Gln Ala Leu Leu Arg
    130                 135                 140

Asn Asp Gln Val Tyr Gln Pro Leu Arg Asp Arg Asp Asp Ala Gln Tyr
145                 150                 155                 160

Ser His Leu Gly Gly Asn Trp Ala Arg Asn Lys
                165                 170
```

<210> 345
<211> 182
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 345

```
Met Glu Gln Gly Lys Gly Leu Ala Val Leu Ile Leu Ala Ile Ile Leu
1               5                  10                  15

Leu Gln Gly Thr Leu Ala Gln Ser Ile Lys Gly Asn His Leu Val Lys
            20                  25                  30

Val Tyr Asp Tyr Gln Glu Asp Gly Ser Val Leu Leu Thr Cys Asp Ala
        35                  40                  45

Glu Ala Lys Asn Ile Thr Trp Phe Lys Asp Gly Lys Met Ile Gly Phe
    50                  55                  60

Leu Thr Glu Asp Lys Lys Lys Trp Asn Leu Gly Ser Asn Ala Lys Asp
65                  70                  75                  80

Pro Arg Gly Met Tyr Gln Cys Lys Gly Ser Gln Asn Lys Ser Lys Pro
                85                  90                  95

Leu Gln Val Tyr Tyr Arg Met Cys Gln Asn Cys Ile Glu Leu Asn Ala
            100                 105                 110

Ala Thr Ile Ser Gly Phe Leu Phe Ala Glu Ile Val Ser Ile Phe Val
        115                 120                 125

Leu Ala Val Gly Val Tyr Phe Ile Ala Gly Gln Asp Gly Val Arg Gln
    130                 135                 140

Ser Arg Ala Ser Asp Lys Gln Thr Leu Leu Pro Asn Asp Gln Leu Tyr
145                 150                 155                 160

Gln Pro Leu Lys Asp Arg Glu Asp Asp Gln Tyr Ser His Leu Gln Gly
                165                 170                 175

Asn Gln Leu Arg Arg Asn
            180
```

<210> 346
<211> 207
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 346

```
Met Gln Ser Gly Thr His Trp Arg Val Leu Gly Leu Cys Leu Leu Ser
1               5                  10                  15

Val Gly Val Trp Gly Gln Asp Gly Asn Glu Glu Met Gly Gly Ile Thr
            20                  25                  30

Gln Thr Pro Tyr Lys Val Ser Ile Ser Gly Thr Thr Val Ile Leu Thr
        35                  40                  45

Cys Pro Gln Tyr Pro Gly Ser Glu Ile Leu Trp Gln His Asn Asp Lys
    50                  55                  60

Asn Ile Gly Gly Asp Glu Asp Asp Lys Asn Ile Gly Ser Asp Glu Asp
65                  70                  75                  80

His Leu Ser Leu Lys Glu Phe Ser Glu Leu Glu Gln Ser Gly Tyr Tyr
                85                  90                  95

Val Cys Tyr Pro Arg Gly Ser Lys Pro Glu Asp Ala Asn Phe Tyr Leu
            100                 105                 110

Tyr Leu Arg Ala Arg Val Cys Glu Asn Cys Met Glu Met Asp Val Met
        115                 120                 125

Ser Val Ala Thr Ile Val Ile Val Asp Ile Cys Ile Thr Gly Gly Leu
    130                 135                 140

Leu Leu Leu Val Tyr Tyr Trp Ser Lys Asn Arg Lys Ala Lys Ala Lys
145                 150                 155                 160

Pro Val Thr Arg Gly Ala Gly Ala Gly Gly Arg Gln Arg Gly Gln Asn
                165                 170                 175

Lys Glu Arg Pro Pro Pro Val Pro Asn Pro Asp Tyr Glu Pro Ile Arg
            180                 185                 190

Lys Gly Gln Arg Asp Leu Tyr Ser Gly Leu Asn Gln Arg Arg Ile
        195                 200                 205
```

<210> 347
<211> 164
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 347

```
Met Lys Trp Lys Ala Leu Phe Thr Ala Ala Ile Leu Gln Ala Gln Leu
1               5                  10                  15
```

Pro Ile Thr Glu Ala Gln Ser Phe Gly Leu Leu Asp Pro Lys Leu Cys
20 25 30

Tyr Leu Leu Asp Gly Ile Leu Phe Ile Tyr Gly Val Ile Leu Thr Ala
35 40 45

Leu Phe Leu Arg Val Lys Phe Ser Arg Ser Ala Asp Ala Pro Ala Tyr
50 55 60

Gln Gln Gly Gln Asn Gln Leu Tyr Asn Glu Leu Asn Leu Gly Arg Arg
65 70 75 80

Glu Glu Tyr Asp Val Leu Asp Lys Arg Arg Gly Arg Asp Pro Glu Met
85 90 95

Gly Gly Lys Pro Gln Arg Arg Lys Asn Pro Gln Glu Gly Leu Tyr Asn
100 105 110

Glu Leu Gln Lys Asp Lys Met Ala Glu Ala Tyr Ser Glu Ile Gly Met
115 120 125

Lys Gly Glu Arg Arg Arg Gly Lys Gly His Asp Gly Leu Tyr Gln Gly
130 135 140

Leu Ser Thr Ala Thr Lys Asp Thr Tyr Asp Ala Leu His Met Gln Ala
145 150 155 160

Leu Pro Pro Arg

<210> 348
<211> 142
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 348

Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser
1 5 10 15

Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln
20 25 30

Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys
35 40 45

Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val
50 55 60

```
Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn
65                  70                  75                  80

Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys
                85                  90                  95

Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Phe Arg
            100                 105                 110

Ile Leu Leu Leu Lys Val Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg
        115                 120                 125

Leu Trp Ser Ser Leu Asn Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly
    130                 135                 140
```

<210> 349
<211> 177
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 349

```
Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro
1               5                   10                  15

Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
            20                  25                  30

Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn
        35                  40                  45

Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys
    50                  55                  60

Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
65                  70                  75                  80

Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys
                85                  90                  95

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Val Ser
            100                 105                 110

Ala Glu Ala Trp Gly Arg Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr
        115                 120                 125

Gln Gln Gly Val Leu Ser Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly
    130                 135                 140
Lys Ala Thr Leu Tyr Ala Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala
145                 150                 155                 160

Met Val Lys Arg Lys Asp Phe Gln Asp Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln
                165                 170                 175

Ile
```

<210> 350

<211> 118
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 350

```
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 Ile Thr Phe Ser Ile Asn
            20                  25                  30

Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
        35                  40                  45

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

Arg Phe Arg Thr Ala Ala Gln Gly Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 351
<211> 119
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 351

```
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 Phe Gly Phe Asn
            20                  25                  30

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

Ala Leu Ile Ser Arg Val Gly Val Thr Ser Ser Ala Asp Ser Val Lys
    50                  55                  60

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

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

Met Asp Gln Arg Leu Asp Gly Ser Thr Leu Ala Tyr Trp Gly Gln Gly
            100                 105                 110

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        115
```

<210> 352
<211> 127
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 352

```
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

Val Ala Ile Asn Trp Ser Ser Gly 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 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 Gly Tyr Gln Ile Asn Ser Gly Asn Tyr Asn Phe Lys Asp Tyr
            100                 105                 110

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

<210> 353

<211> 123
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 353

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Ser Gly Val Leu Gly Gly Leu His Glu Asp Trp Phe Asn Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 354
<211> 123
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 354

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Ser Gly Val Leu Gly Gly Leu His Glu Asp Trp Phe Asn Tyr
            100                 105                 110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 355
<211> 124
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 355

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

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

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

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asp
65                  70                  75                  80
Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Ala Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
            100                 105                 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 356

<211> 124
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 356

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Ala Ala Gly Ser Thr Trp Tyr Gly Thr Leu Tyr Glu Tyr Asp
            100                 105                 110

Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        115                 120
```

<210> 357
<211> 120
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 357

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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 358
<211> 129
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 358

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

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

Ala Thr Ile Ala Trp Asp Ser Gly 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 His
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 Tyr Asn Val Tyr Tyr Asn Asn Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser
100 105 110

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

Ser

<210> 359
<211> 133
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 359

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly
100 105 110

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

Val Thr Val Ser Ser
130

<210> 360
<211> 127
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 360

```
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

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

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

Ala Ala Asp Leu Thr Ser Thr Asn Pro Gly Ser Tyr Ile Tyr Ile Trp
            100                 105                 110

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

<210> 361
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 361

```
Gly Asp Thr Tyr Gly Ser Tyr Trp Met Gly
1               5                   10
```

<210> 362
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 362

```
Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly
1               5                   10
```

<210> 363
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 363

```
Ala Ile Asn Arg Gly Gly Gly Tyr Thr Val
1               5                   10
```

<210> 364
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 364

Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr
1 5

<210> 365
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 365

Ser Gly Val Leu Gly Gly Leu His Glu Asp Trp Phe Asn Tyr
1 5 10

<210> 366
<211> 12
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 366

Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr
1 5 10

<210> 367
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 367

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

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser
20 25

<210> 368
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR1

<400> 368

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 Phe Ser
20 25

<210> 369
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 369

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala
1 5 10

<210> 370
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 370

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Gln Glu Arg Glu Ala Val Ala
1 5 10

<210> 371
<211> 14
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR2

<400> 371

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala
1 5 10

<210> 372
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 372

Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ala
1 5 10 15

Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr
20 25 30

Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala
35

<210> 373

<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 373

```
Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
1               5                   10                  15

Lys Asn Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr
            20                  25                  30

Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala
        35
```

<210> 374
<211> 39
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR3

<400> 374

```
Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp Ser Val
1               5                   10                  15

Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
            20                  25                  30

Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala
        35
```

<210> 375
<211> 11
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> FR4

<400> 375

```
Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
1               5                   10
```

<210> 376
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Ligador

<400> 376

```
Gly Gly Gly Gly Ser
1               5
```

<210> 377

<211> 7
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Ligador

<400> 377

Ser Gly Gly Ser Gly Gly Ser
1 5

<210> 378
<211> 9
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Ligador

<400> 378

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser
1 5

<210> 379
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Ligador

<400> 379

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10

<210> 380
<211> 15
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Ligador

<400> 380

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
1 5 10 15

<210> 381
<211> 18
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Ligador

<400> 381

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Gly Gly
1 5 10 15

Gly Ser

<210> 382
<211> 20
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Ligador

<400> 382

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser
20

<210> 383
<211> 25
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Ligador

<400> 383

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
20 25

<210> 384
<211> 30
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Ligador

<400> 384

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
20 25 30

<210> 385
<211> 35
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Ligador

<400> 385

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

<210> 386
<211> 3
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Ligador

<400> 386

Ala Ala Ala
1

<210> 387
<211> 423
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 387

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 Thr Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        275                 280                 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    290                 295                 300

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
305                 310                 315                 320

Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
                325                 330                 335

Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
            340                 345                 350

Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala
        355                 360                 365

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr
    370                 375                 380
Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val
385                 390                 395                 400

Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr
                405                 410                 415

Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
            420
```

<210> 388

<211> 273
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 388

```
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 Thr Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
```

```
                165                 170                 175

Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Ala
```

<210> 389
<211> 430
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 389

```
Asp 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

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

Ala Ala Ile Ser Trp Ser Asp Gly 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 Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
Ala Ala Asp Leu Thr Ser Thr Asn Pro Gly Ser Tyr Ile Tyr Ile Trp
            100                 105                 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145                 150                 155                 160

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
                165                 170                 175

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys
            180                 185                 190

Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu
        195                 200                 205

Met Val Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser
    210                 215                 220

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val
225                 230                 235                 240

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe
                245                 250                 255

Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly
            260                 265                 270

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
        275                 280                 285

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    290                 295                 300

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
305                 310                 315                 320

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
                325                 330                 335

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
```

```
            340                 345                 350

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
        355                 360                 365

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    370                 375                 380

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
385                 390                 395                 400

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
                405                 410                 415

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala
            420                 425                 430
```

<210> 390
<211> 473
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 390

```
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

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

Ala Thr Ile Ala Trp Asp Ser Gly 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 His
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 Tyr Asn Val Tyr Tyr Asn Asn Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser
            100                 105                 110

Arg Asp Glu Tyr Asp Tyr 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

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val
                165                 170                 175

Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Thr
            180                 185                 190

Tyr Gly Ser Tyr Trp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
        195                 200                 205

Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Asn Arg Gly Gly Gly Tyr Thr Val Tyr
    210                 215                 220

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ala Lys
225                 230                 235                 240

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala
                245                 250                 255

Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Gly Val Leu Gly Gly Leu His Glu Asp
            260                 265                 270

Trp Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
        275                 280                 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    290                 295                 300

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
305                 310                 315                 320

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
                325                 330                 335

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys
            340                 345                 350

Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
        355                 360                 365

Lys Val Ala His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser
```

370 375 380

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val
385 390 395 400

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe
405 410 415

Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
420 425 430

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp
435 440 445

Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys
450 455 460

Gly Ala Ala His His His His His His
465 470

<210> 391
<211> 477
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 391

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly
100 105 110

```
Leu Ser Thr Gly Gly Tyr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Leu
        115                 120                 125

Val Thr Val Ser 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

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
                165                 170                 175

Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
            180                 185                 190

Ser Gly Asp Thr Tyr Gly Ser Tyr Trp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
        195                 200                 205

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Asn Arg Gly Gly Gly
    210                 215                 220

Tyr Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro
                245                 250                 255

Asp Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Gly Val Leu Gly Gly
            260                 265                 270

Leu His Glu Asp Trp Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
        275                 280                 285

Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    290                 295                 300

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
305                 310                 315                 320

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
                325                 330                 335

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly
            340                 345                 350

Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly
```

355 360 365

Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp
370 375 380

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser
385 390 395 400

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
405 410 415

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr
420 425 430

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ala Ala Asp Tyr
435 440 445

Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr Lys Asp
450 455 460

Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His His His
465 470 475

<210> 392
<211> 483
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 392

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

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

Ala Thr Ile Ala Trp Asp Ser Gly 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 His
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 Tyr Asn Val Tyr Tyr Asn Asn Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser
            100                 105                 110

Arg Asp Glu Tyr Asp Tyr 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

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val
                165                 170                 175

Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr
            180                 185                 190

Ile Gly Pro Tyr Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
        195                 200                 205

Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Asn Met Gly Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr
    210                 215                 220

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys
225                 230                 235                 240

Asn Thr Val Tyr Leu Leu Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala
                245                 250                 255

Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu
            260                 265                 270

Cys Gly His Gly Leu Ser Thr Gly Gly Tyr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly
        275                 280                 285

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    290                 295                 300

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
305                 310                 315                 320

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
                325                 330                 335

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
```

340 345 350

Ser Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp
355 360 365

Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser
370 375 380

Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr
385 390 395 400

Ile Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser
405 410 415

Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg
420 425 430

Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
435 440 445

Ser Gly Ala Ala Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His
450 455 460

Asp Ile Asp Tyr Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His
465 470 475 480

His His His

<210> 393
<211> 107
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 393

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

Asn Ser Thr Leu Arg Cys Asn Phe Ser Asp Ser Val Asn Asn Leu Gln
20 25 30

Trp Phe His Gln Asn Pro Trp Gly Gln Leu Ile Asn Leu Phe Tyr Ile
35 40 45

Pro Ser Gly Thr Lys Gln Asn Gly Arg Leu Ser Ala Thr Thr Val Ala
50 55 60

Thr Glu Arg Tyr Ser Leu Leu Tyr Ile Ser Ser Ser Gln Thr Thr Asp
65 70 75 80

Ser Gly Val Tyr Phe Cys Ala Ala Leu Ile Gln Gly Ala Gln Lys Leu
85 90 95

Val Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Thr Ile Asn
100 105

<210> 394
<211> 108
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 394

```
Gln Leu Leu Glu Gln Ser Pro Gln Phe Leu Ser Ile Gln Glu Gly Glu
1               5                   10                  15

Asn Leu Thr Val Tyr Cys Asn Ser Ser Ser Val Phe Ser Ser Leu Gln
            20                  25                  30

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

Val Thr Gly Gly Glu Val Lys Lys Leu Lys Arg Leu Thr Phe Gln Phe
    50                  55                  60

Gly Asp Ala Arg Lys Asp Ser Ser Leu His Ile Thr Ala Ala Gln Pro
65                  70                  75                  80

Gly Asp Thr Gly Leu Tyr Leu Cys Ala Gly Ala Gly Ser Gln Gly Asn
                85                  90                  95

Leu Ile Phe Gly Lys Gly Thr Lys Leu Ser Val Lys
            100                 105
```

<210> 395
<211> 110
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 395

```
Gly Asp Ala Lys Thr Thr Gln Pro Asn Ser Met Glu Ser Asn Glu Glu
1               5                   10                  15

Glu Pro Val His Leu Pro Cys Asn His Ser Thr Ile Ser Gly Thr Asp
            20                  25                  30

Tyr Ile His Trp Tyr Arg Gln Leu Pro Ser Gln Gly Pro Glu Tyr Val
        35                  40                  45
Ile His Gly Leu Thr Ser Asn Val Asn Asn Arg Met Ala Ser Leu Ala
    50                  55                  60

Ile Ala Glu Asp Arg Lys Ser Ser Thr Leu Ile Leu His Arg Ala Thr
65                  70                  75                  80

Leu Arg Asp Ala Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Val Tyr Gly Gly Ala Thr
                85                  90                  95

Asn Lys Leu Ile Phe Gly Thr Gly Thr Leu Leu Ala Val Gln
            100                 105                 110
```

<210> 396
<211> 96
<212> PRT
<213> *Macaca fascicularis*

<400> 396

```
Pro Tyr Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Gly Ser
1               5                   10                  15

Lys Ser Asn Asp Thr Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Val
            20                  25                  30

Met Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val His Ile Thr Asp Lys
        35                  40                  45

Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Gly Ala Val
    50                  55                  60

Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Thr Ser Ala Phe Lys Asp
65                  70                  75                  80

Ser Val Ile Pro Ala Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys
                85                  90                  95
```

<210> 397
<211> 131
<212> PRT
<213> *Macaca mulatta*

<400> 397

```
Glu Asp Leu Lys Lys Val Phe Pro Pro Lys Val Ala Val Phe Glu Pro
1               5                   10                  15

Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
            20                  25                  30
Ala Thr Gly Phe Tyr Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn
        35                  40                  45

Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys
    50                  55                  60

Glu Gln Pro Ala Leu Glu Asp Ser Arg Tyr Ser Leu Ser Ser Arg Leu
65                  70                  75                  80

Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp His Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys
                85                  90                  95

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asp Asp Glu Trp Thr Glu Asp
            100                 105                 110

Arg Asp Lys Pro Ile Thr Gln Lys Ile Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
        115                 120                 125

Ala Asp Cys
    130
```

<210> 398
<211> 107
<212> PRT
<213> *Macaca mulatta*

<400> 398

```
Gln Gln Ile Met Gln Ile Pro Gln Tyr Gln His Val Gln Glu Gly Glu
1               5                   10                  15

Asp Phe Thr Thr Tyr Cys Asn Ser Ser Thr Thr Leu Ser Asn Ile Gln
            20                  25                  30

Trp Tyr Lys Gln Arg Pro Gly Gly His Pro Val Phe Leu Ile Met Leu
        35                  40                  45

Val Lys Ser Gly Glu Val Lys Lys Gln Lys Arg Leu Ile Phe Gln Phe
    50                  55                  60

Gly Glu Ala Lys Lys Asn Ser Ser Leu His Ile Thr Ala Thr Gln Thr
65                  70                  75                  80

Thr Asp Val Gly Thr Tyr Phe Cys Ala Thr Thr Gly Val Asn Asn Leu
                85                  90                  95

Phe Phe Gly Thr Gly Thr Arg Leu Thr Val Leu
            100                 105
```

<210> 399
<211> 118
<212> PRT
<213> *Macaca mulatta*

<400> 399

```
Ala Gly Pro Val Asn Ala Gly Val Thr Gln Thr Pro Lys Phe Gln Val
1               5                   10                  15

Leu Lys Thr Gly Gln Ser Met Thr Leu Gln Cys Ala Gln Asp Met Asn
            20                  25                  30

His Asp Tyr Met Tyr Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Met Gly Leu Arg
        35                  40                  45

Leu Ile His Tyr Ser Val Gly Glu Gly Ser Thr Glu Lys Gly Glu Val
    50                  55                  60

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

Arg Leu Glu Ser Ala Ala Pro Ser Gln Thr Ser Val Tyr Phe Cys Ala
                85                  90                  95

Ser Ser Tyr Trp Thr Gly Arg Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly
            100                 105                 110

Thr Arg Leu Thr Val Ile
        115
```

<210> 400
<211> 115
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 400

```
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> 401
<211> 115
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 401

```
Glu Val Gln Leu Leu 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 Arg Ser Phe
            20                  25                  30

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Pro 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 Ser Lys Asn 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> 402
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 402

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val 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 Thr 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 Ala
        115
```

<210> 403
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 403

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

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

Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Pro 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 Ser Lys Asn Thr Leu Tyr
65                  70                  75                  80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Thr 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 Ala
        115
```

<210> 404
<211> 115
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 404

```
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> 405
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 405

```
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 Lys
            100                 105                 110

Val Ser Ser Ala
        115
```

<210> 406
<211> 115
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 406

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val 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 Leu 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> 407
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 407

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val 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 Leu 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 Ala
        115
```

<210> 408
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 408

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val 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 Leu 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 Ala Ala
        115
```

<210> 409
<211> 118
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 409

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val 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 Leu 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 Ala Ala Ala
        115
```

<210> 410
<211> 116
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 410

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val 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 Leu 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 Gly
        115
```

<210> 411
<211> 117
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 411

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val 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 Leu 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 Gly Gly
        115
```

<210> 412
<211> 118
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 412

```
Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Val 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 Leu 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 Gly Gly Gly
        115
```

<210> 413
<211> 293
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 413

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

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

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

Ala Ser Ile Ser Trp Ser Gly Glu Asn Thr Asn Tyr Arg Asn 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 Lys Ile Ala Lys Thr Tyr Pro Asp Asn Trp Tyr Trp Thr Lys
            100                 105                 110

Ser Asn Asn Tyr Asn Tyr 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

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val
                165                 170                 175

Gln Gly Gly Gly Ser Leu Ser Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr
            180                 185                 190

Phe Ser Ser Tyr Ala Met Ala Trp Phe Arg Gln Pro Pro Gly Lys Glu
        195                 200                 205

Arg Glu Phe Val Ala Ser Ile Ser Trp Ser Gly Glu Asn Thr Asn Tyr
    210                 215                 220

Arg Asn Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg 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 Lys Ile Ala Lys Thr Tyr Pro Asp Asn Trp
            260                 265                 270

Tyr Trp Thr Lys Ser Asn Asn Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
        275                 280                 285

Val Thr Val Ser Ser
    290
```

<210> 414
<211> 242
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 414

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45
Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

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

Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg
    130                 135                 140

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly
145                 150                 155                 160

Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val Ala Thr Ile
                165                 170                 175

Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys Gly Arg Phe
            180                 185                 190

Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn
        195                 200                 205

Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser
    210                 215                 220

Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser
```

<210> 415
<211> 255
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 415

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly
            100                 105                 110

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

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu 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 Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg
                165                 170                 175

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val Ala Thr Ile Thr Ile Gly
            180                 185                 190

Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser
        195                 200                 205

Arg Asp Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
    210                 215                 220

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Leu Tyr
225                 230                 235                 240

Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
                245                 250                 255
```

<210> 416
<211> 258
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 416

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln
        115                 120                 125

Leu Gln Ala Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg
    130                 135                 140

Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Ile Gly Pro Tyr Cys Met Gly
145                 150                 155                 160

Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile
                165                 170                 175

Asn Met Gly Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg
            180                 185                 190

Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Leu Met
        195                 200                 205
```

```
Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp
    210                 215                 220

Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly Leu Ser Thr
225                 230                 235                 240

Gly Gly Tyr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val
                245                 250                 255

Ser Ser
```

<210> 417
<211> 242
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 417

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

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

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys
    130                 135                 140

Thr Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg
```

```
145                 150                 155                 160

Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly
                165                 170                 175

Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser
            180                 185                 190

Glu Asp Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys
        195                 200                 205

Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr
    210                 215                 220

Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val
225                 230                 235                 240

Ser Ser
```

<210> 418
<211> 246
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 418

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
```

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
115 120 125

Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly
130 135 140

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile
145 150 155 160

Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu
165 170 175

Val Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala
180 185 190

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr
195 200 205

Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
210 215 220

Arg Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225 230 235 240

Leu Val Thr Val Ser Ser
245

<210> 419
<211> 259
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 419

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly
            100                 105                 110

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

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Glu Val
    130                 135                 140

Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu
145                 150                 155                 160

Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu
                165                 170                 175

Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val Ala Thr
            180                 185                 190

Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys Gly Arg
        195                 200                 205

Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met
    210                 215                 220

Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly
225                 230                 235                 240

Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
                245                 250                 255

Val Ser Ser
```

<210> 420
<211> 262
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 420

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
        115                 120                 125

Ser Asp Val Gln Leu Gln Ala Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly
    130                 135                 140

Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Ile Gly Pro
145                 150                 155                 160

Tyr Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly
                165                 170                 175

Val Ala Ala Ile Asn Met Gly Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser
            180                 185                 190

Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val
        195                 200                 205

Tyr Leu Leu Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr
    210                 215                 220

Cys Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His
225                 230                 235                 240

Gly Leu Ser Thr Gly Gly Tyr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr
                245                 250                 255
Gln Val Thr Val Ser Ser
            260
```

<210> 421
<211> 246
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 421

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            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 Pro Gly Gly Ser Leu
    130                 135                 140

Arg Leu Ser Cys Thr Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met
145                 150                 155                 160

Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu
                165                 170                 175

Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg
            180                 185                 190
Phe Ser Ile Ser Glu Asp Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met
        195                 200                 205

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

Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
225                 230                 235                 240

Leu Val Thr Val Ser Ser
                245
```

<210> 422
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 422

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val Ala Thr Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 423
<211> 285

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 423

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

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

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

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

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

Leu Leu Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
```

```
Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly
            100                 105                 110

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

Val Thr Val Ser 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

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
                165                 170                 175

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
            180                 185                 190

Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala
        195                 200                 205

Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr
    210                 215                 220

Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
225                 230                 235                 240

Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
                245                 250                 255

Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr
            260                 265                 270

Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        275                 280                 285
```

<210> 424
<211> 288
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 424

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Asp Val Gln Leu Gln
145                 150                 155                 160

Ala Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr Ile Gly Pro Tyr Cys Met Gly Trp Phe
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Asn Met
        195                 200                 205

Gly Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr
    210                 215                 220

Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Leu Met Asn Ser
225                 230                 235                 240

Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Ser Thr
                245                 250                 255

Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly Leu Ser Thr Gly Gly
            260                 265                 270
Tyr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        275                 280                 285
```

<210> 425
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 425

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190
Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 426
<211> 288
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 426

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly
            100                 105                 110

Leu Ser Thr Gly Gly Tyr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln
        115                 120                 125
```

```
Val Thr Val Ser 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

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
                165                 170                 175

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
            180                 185                 190

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
        195                 200                 205

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
    210                 215                 220

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
225                 230                 235                 240

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
                245                 250                 255

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
            260                 265                 270

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        275                 280                 285
```

<210> 427
<211> 285
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 427

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys
```

```
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Val Gln Leu Gln Ala Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
                165                 170                 175

Ser Gly Tyr Thr Ile Gly Pro Tyr Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Asn Met Gly Gly Gly
        195                 200                 205

Ile Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln
    210                 215                 220

Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Leu Met Asn Ser Leu Glu Pro
225                 230                 235                 240

Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala
                245                 250                 255

Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly Leu Ser Thr Gly Gly Tyr Gly Tyr
            260                 265                 270

Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser
        275                 280                 285
```

<210> 428
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 428

```
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 Asp Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 429
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 429

```
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 Ala Ala Ser Gly Ala Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Glu Lys Glu Arg Glu Met Val
        35                  40                  45

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

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175
Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 430
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 430

```
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 Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Lys Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110
```

```
Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 431
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 431

```
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 Val His Leu Leu Asn
            20                  25                  30

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

```
Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala His Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 432
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 432

```
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 Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

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

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

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

Ala Lys Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 433
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de Nanobody

<400> 433

```
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 Glu Val Tyr Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 434
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 434

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125
```

```
Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 435
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 435

```
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 Glu Ile Gly Arg Ile Asn
            20                  25                  30

Phe Tyr Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gln Arg Glu Val Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Thr Ile Ala Asp Lys Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60
```

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 436
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 436

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Gln Ala Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255
Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 437
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 437

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190
Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 438
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 438

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
```

```
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 439
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 439

```
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 Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala Thr Ile Thr Ile Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Leu Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 440
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 440

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 441
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 441

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser Ile
        195                 200                 205
Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 442
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de Nanobody

<400> 442

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Glu Ile Gly Arg Ile Asn Phe Tyr Arg Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gln Arg Glu Val Val Ala Thr Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Ala Asp Lys Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ser Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Ser Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys His Ala Gly Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 443
<211> 272

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 443

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
```

```
                85                  90                  95

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Gln Ala Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 444
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 444

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30
```

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 445
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 445

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val Ala Thr Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220
Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 446
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de Nanobody

<400> 446

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Gly Leu Val Ala Thr Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Thr Thr Asp Tyr Ala Asp Tyr Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Arg Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 447
<211> 272

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 447

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

```
Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val Tyr Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp His
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 448
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 448

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
```

```
        35                  40                  45

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Glu Val Tyr Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Ala Asp Ala Ala Asp Tyr Ala Asp Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Trp Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 449
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 449

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Asp Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Glu Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Pro Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Leu Cys Arg Ala Gly Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 450
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 450

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175
Cys Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn Ile Trp Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ser Leu Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Glu Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Asn Ala Lys Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 451
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 451

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110
```

```
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Ser Val His Leu Leu Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala His Phe Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Gly Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 452
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 452

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

```
Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn Ile Trp Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ser Leu Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Gly Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Glu Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Asn Ala Lys Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 453
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 453

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

Gln Leu Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg
                85                  90                  95

Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240
Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 454
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Secuencia de Nanobody

<400> 454

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255

Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 455
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 455

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Ala Thr Ser Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Leu Asn Asn Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 456
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 456

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60
```

```
Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 457
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 457

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

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

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

Ala His Ile Thr Ile Ala Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Glu Phe Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Gly Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Phe
                165                 170                 175

Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val
        195                 200                 205

Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp
    210                 215                 220

Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr
                245                 250                 255
Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 458
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 458

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190
Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Leu Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 459
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 459

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Lys Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Ala Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Thr Pro Glu Lys Glu Arg Glu Met Val Ala Thr Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Glu Val Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Thr Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Val Cys Arg Ala Gly Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 460
<211> 422
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 460

```
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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80
```

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        275                 280                 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    290                 295                 300

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
305                 310                 315                 320

Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
```

325 330 335

Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
340 345 350

Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala
355 360 365

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr
370 375 380

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val
385 390 395 400

Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr
405 410 415

Leu Val Thr Val Ser Ser
420

<210> 461
<211> 422
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 461

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 Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
20 25 30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
50 55 60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
100 105 110

```
Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ile Thr Ser Gly Glu Thr Phe Lys Ile Asn Ile Trp Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Ser Leu Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Glu Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Asn Ala Lys Ser Arg Leu
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        275                 280                 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    290                 295                 300

Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
305                 310                 315                 320

Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
                325                 330                 335

Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
            340                 345                 350

Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala
```

```
        355                 360                 365

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr
    370                 375                 380

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val
385                 390                 395                 400

Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr
                405                 410                 415

Leu Val Thr Val Ser Ser
            420
```

<210> 462
<211> 270
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 462

```
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 Ile Thr Phe Ser Ile Asn
            20                  25                  30

Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val
        35                  40                  45

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

Arg Phe Arg Thr Ala Ala Gln Gly Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
            100                 105                 110

Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val
                165                 170                 175

Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln
            180                 185                 190

Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser Ile Gly Asp
        195                 200                 205

Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
    210                 215                 220

Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro
225                 230                 235                 240

Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro
                245                 250                 255

Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 463
<211> 270
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 463

```
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 Asp Val His Lys Ile Asn
            20                  25                  30

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

Ala His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
            100                 105                 110

Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
145                 150                 155                 160

Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
                165                 170                 175

Ser Gly Ile Thr Phe Ser Ile Asn Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala
            180                 185                 190

Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala Leu Ile Ser Ser Ile Gly Asp
        195                 200                 205

Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp
    210                 215                 220

Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Lys Arg Phe Arg Thr Ala Ala Gln Gly
                245                 250                 255

Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 464
<211> 439
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 464

```
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

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

Ala Thr Ile Ala Trp Asp Ser Gly 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 His
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 Tyr Asn Val Tyr Tyr Asn Asn Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser
            100                 105                 110

Arg Asp Glu Tyr Asp Tyr 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

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val
                165                 170                 175

Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Thr
            180                 185                 190

Tyr Gly Ser Tyr Trp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
        195                 200                 205

Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Asn Arg Gly Gly Gly Tyr Thr Val Tyr
    210                 215                 220

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ala Lys
225                 230                 235                 240

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala
                245                 250                 255

Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Gly Val Leu Gly Gly Leu His Glu Asp
            260                 265                 270
```

```
Trp Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
        275                 280                 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    290                 295                 300

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
305                 310                 315                 320

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
                325                 330                 335

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys
            340                 345                 350

Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
        355                 360                 365

Lys Val Ala His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser
    370                 375                 380

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val
385                 390                 395                 400

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe
                405                 410                 415

Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            420                 425                 430

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        435
```

<210> 465
<211> 443
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 465

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu Cys Gly His Gly
            100                 105                 110

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

Val Thr Val Ser 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

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly
                165                 170                 175

Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala
            180                 185                 190

Ser Gly Asp Thr Tyr Gly Ser Tyr Trp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala
        195                 200                 205

Pro Gly Lys Glu Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Asn Arg Gly Gly Gly
    210                 215                 220

Tyr Thr Val Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg
225                 230                 235                 240

Asp Thr Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro
                245                 250                 255

Asp Asp Thr Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Gly Val Leu Gly Gly
            260                 265                 270

Leu His Glu Asp Trp Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr
        275                 280                 285
```

```
Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
    290                 295                 300

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
305                 310                 315                 320

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly
                325                 330                 335

Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly
            340                 345                 350

Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly
        355                 360                 365

Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp
    370                 375                 380

Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser
385                 390                 395                 400

Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr
                405                 410                 415

Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr
            420                 425                 430

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        435                 440
```

<210> 466
<211> 449
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 466

```
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

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

```
Ala Thr Ile Ala Trp Asp Ser Gly 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 His
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 Tyr Asn Val Tyr Tyr Asn Asn Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser
            100                 105                 110

Arg Asp Glu Tyr Asp Tyr 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

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val
                165                 170                 175

Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Tyr Thr
            180                 185                 190

Ile Gly Pro Tyr Cys Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
        195                 200                 205

Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Asn Met Gly Gly Gly Ile Thr Tyr Tyr
    210                 215                 220

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Gln Asp Asn Ala Lys
225                 230                 235                 240

Asn Thr Val Tyr Leu Leu Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala
                245                 250                 255

Ile Tyr Tyr Cys Ala Ala Asp Ser Thr Ile Tyr Ala Ser Tyr Tyr Glu
            260                 265                 270

Cys Gly His Gly Leu Ser Thr Gly Gly Tyr Gly Tyr Asp Ser Trp Gly
        275                 280                 285

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    290                 295                 300
```

```
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
305                 310                 315                 320

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
                325                 330                 335

Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
            340                 345                 350

Ser Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp
        355                 360                 365

Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser
    370                 375                 380

Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr
385                 390                 395                 400

Ile Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser
                405                 410                 415

Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg
            420                 425                 430

Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
        435                 440                 445

Ser
```

<210> 467
<211> 422
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 467

```
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 Thr Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

```
Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

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

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly
        275                 280                 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    290                 295                 300
```

```
Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
305                 310                 315                 320

Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
                325                 330                 335

Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu
            340                 345                 350

Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala
        355                 360                 365

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr
    370                 375                 380

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val
385                 390                 395                 400

Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr
                405                 410                 415

Leu Val Thr Val Ser Ser
            420
```

<210> 468
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 468

```
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 Thr Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
    50                  55                  60

Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80
```

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

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Lys Val Ala His Ile Ser Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 469
<211> 429
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 469

```
Asp 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

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

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

Ala Ala Asp Leu Thr Ser Thr Asn Pro Gly Ser Tyr Ile Tyr Ile Trp
            100                 105                 110

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

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145                 150                 155                 160

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
                165                 170                 175

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys
            180                 185                 190

Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu
        195                 200                 205

Met Val Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser
    210                 215                 220

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val
225                 230                 235                 240

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe
                245                 250                 255

Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly
            260                 265                 270
```

```
Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
        275                 280                 285

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    290                 295                 300

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
305                 310                 315                 320

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
                325                 330                 335

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
            340                 345                 350

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
        355                 360                 365

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    370                 375                 380

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
385                 390                 395                 400

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
                405                 410                 415

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            420                 425
```

<210> 470
<211> 272
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 470

```
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 Thr Phe Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
            20                  25                  30

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

Ala Glu Val Arg Trp Gly Gly Val Thr Thr Tyr Ser Asn Ser Leu Lys
```

```
    50                  55                  60

Asp Arg Phe Ser Ile Ser Glu Asp Ser Val Lys Asn Ala Val Tyr Leu
65                  70                  75                  80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala
                85                  90                  95

Ala Val Arg Gln Met Tyr Met Thr Val Val Pro Asp Tyr Trp Gly Gln
            100                 105                 110

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser 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 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser
                165                 170                 175

Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr
            180                 185                 190

Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu Met Val Ala His Ile Thr Ile
        195                 200                 205

Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    210                 215                 220

Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
225                 230                 235                 240

Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile
                245                 250                 255

Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            260                 265                 270
```

<210> 471
<211> 279
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 471

```
Asp 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

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Ala Ala Ile Ser Trp Ser Asp Gly 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 Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95

Ala Ala Asp Leu Thr Ser Thr Asn Pro Gly Ser Tyr Ile Tyr Ile Trp
            100                 105                 110

Ala Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser Gly
        115                 120                 125

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    130                 135                 140

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
145                 150                 155                 160

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
                165                 170                 175

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Val His Lys
            180                 185                 190

Ile Asn Ile Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Ala Lys Glu Arg Glu
        195                 200                 205

Met Val Ala His Ile Thr Ile Gly Asp Ala Thr Asp Tyr Ala Asp Ser
    210                 215                 220

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ala Lys Asn Met Val
225                 230                 235                 240

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe
                245                 250                 255

Cys Arg Ala Tyr Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asn Tyr Trp Gly Gln Gly
            260                 265                 270

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
        275
```

<210> 472
<211> 10

<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 472

Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser
1 5 10

<210> 473
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 473

Gly Phe Thr Phe Arg Ser Phe Gly Met Ser
1 5 10

<210> 474
<211> 10
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 474

Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu
1 5 10

<210> 475
<211> 6
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR3

<400> 475

Gly Gly Ser Leu Ser Arg
1 5

<210> 476
<211> 110
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 476

```
Asn Ala Gly Val Thr Gln Thr Pro Lys Phe Arg Ile Leu Lys Ile Gly
1               5                  10                  15

Gln Ser Met Thr Leu Gln Cys Thr Gln Asp Met Asn His Asn Tyr Met
            20                  25                  30

Tyr Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Met Gly Leu Lys Leu Ile Tyr Tyr
        35                  40                  45

Ser Val Gly Ala Gly Ile Thr Asp Lys Gly Glu Val Pro Asn Gly Tyr
    50                  55                  60

Asn Val Ser Arg Ser Thr Thr Glu Asp Phe Pro Leu Arg Leu Glu Leu
65                  70                  75                  80

Ala Ala Pro Ser Gln Thr Ser Val Tyr Phe Cys Ala Ser Thr Tyr His
                85                  90                  95

Gly Thr Gly Tyr Phe Gly Glu Gly Ser Trp Leu Thr Val Val
            100                 105                 110
```

<210> 477
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 477

```
Asp Gly Gly Ile Thr Gln Ser Pro Lys Tyr Leu Phe Arg Lys Glu Gly
1               5                  10                  15

Gln Asn Val Thr Leu Ser Cys Glu Gln Asn Leu Asn His Asp Ala Met
            20                  25                  30

Tyr Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Gln Gly Leu Arg Leu Ile Tyr Tyr
        35                  40                  45

Ser Gln Ile Val Asn Asp Phe Gln Lys Gly Asp Ile Ala Glu Gly Tyr
    50                  55                  60

Ser Val Ser Arg Glu Lys Lys Glu Ser Phe Pro Leu Thr Val Thr Ser
65                  70                  75                  80

Ala Gln Lys Asn Pro Thr Ala Phe Tyr Leu Cys Ala Ser Ser Ser Arg
                85                  90                  95

Ser Ser Tyr Glu Gln Tyr Phe Gly Pro Gly Thr Arg Leu Thr Val Thr
            100                 105                 110
```

<210> 478
<211> 114
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 478

```
Val Val Ser Gln His Pro Ser Trp Val Ile Ala Lys Ser Gly Thr Ser
1               5                   10                  15

Val Lys Ile Glu Cys Arg Ser Leu Asp Phe Gln Ala Thr Thr Met Phe
            20                  25                  30

Trp Tyr Arg Gln Phe Pro Lys Gln Ser Leu Met Leu Met Ala Thr Ser
        35                  40                  45

Asn Glu Gly Ser Lys Ala Thr Tyr Glu Gln Gly Val Glu Lys Asp Lys
    50                  55                  60

Phe Leu Ile Asn His Ala Ser Leu Thr Leu Ser Thr Leu Thr Val Thr
65                  70                  75                  80

Ser Ala His Pro Glu Asp Ser Ser Phe Tyr Ile Cys Ser Ala Arg Gly
                85                  90                  95

Gly Ser Tyr Asn Ser Pro Leu His Phe Gly Asn Gly Thr Arg Leu Thr
            100                 105                 110

Val Thr
```

<210> 479
<211> 96
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 479

```
Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser
1               5                   10                  15

Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln
            20                  25                  30
Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys
        35                  40                  45

Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val
    50                  55                  60

Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn
65                  70                  75                  80

Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys
                85                  90                  95
```

<210> 480
<211> 131
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 480

Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro
1 5 10 15

Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
20 25 30

Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn
35 40 45

Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys
50 55 60

Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
65 70 75 80

Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys
85 90 95

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp
100 105 110

Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
115 120 125

Ala Asp Cys
130

<210> 481
<211> 5
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR1

<400> 481

Ser Phe Gly Met Ser
1 5

<210> 482
<211> 17
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> CDR2

<400> 482

Ser Ile Ser Gly Ser Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys
1 5 10 15

Gly

<210> 483
<211> 98
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 483

```
Gln 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 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 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 Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
                85                  90                  95
Ala Ala
```

<210> 484
<211> 142
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 484

```
Pro Asn Ile Gln Asn Pro Asp Pro Ala Val Tyr Gln Leu Arg Asp Ser
1               5                   10                  15

Lys Ser Ser Asp Lys Ser Val Cys Leu Phe Thr Asp Phe Asp Ser Gln
            20                  25                  30

Thr Asn Val Ser Gln Ser Lys Asp Ser Asp Val Tyr Ile Thr Asp Lys
        35                  40                  45

Thr Val Leu Asp Met Arg Ser Met Asp Phe Lys Ser Asn Ser Ala Val
    50                  55                  60

Ala Trp Ser Asn Lys Ser Asp Phe Ala Cys Ala Asn Ala Phe Asn Asn
65                  70                  75                  80

Ser Ile Ile Pro Glu Asp Thr Phe Phe Pro Ser Pro Glu Ser Ser Cys
                85                  90                  95

Asp Val Lys Leu Val Glu Lys Ser Phe Glu Thr Asp Thr Asn Leu Asn
            100                 105                 110

Phe Gln Asn Leu Ser Val Ile Gly Phe Arg Ile Leu Leu Leu Lys Val
        115                 120                 125

Ala Gly Phe Asn Leu Leu Met Thr Leu Arg Leu Trp Ser Ser
    130                 135                 140
```

<210> 485
<211> 177
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 485

```
Glu Asp Leu Asn Lys Val Phe Pro Pro Glu Val Ala Val Phe Glu Pro
1               5                  10                  15

Ser Glu Ala Glu Ile Ser His Thr Gln Lys Ala Thr Leu Val Cys Leu
            20                  25                  30
Ala Thr Gly Phe Phe Pro Asp His Val Glu Leu Ser Trp Trp Val Asn
        35                  40                  45

Gly Lys Glu Val His Ser Gly Val Ser Thr Asp Pro Gln Pro Leu Lys
    50                  55                  60

Glu Gln Pro Ala Leu Asn Asp Ser Arg Tyr Cys Leu Ser Ser Arg Leu
65                  70                  75                  80

Arg Val Ser Ala Thr Phe Trp Gln Asn Pro Arg Asn His Phe Arg Cys
                85                  90                  95

Gln Val Gln Phe Tyr Gly Leu Ser Glu Asn Asp Glu Trp Thr Gln Asp
            100                 105                 110

Arg Ala Lys Pro Val Thr Gln Ile Val Ser Ala Glu Ala Trp Gly Arg
        115                 120                 125

Ala Asp Cys Gly Phe Thr Ser Val Ser Tyr Gln Gln Gly Val Leu Ser
    130                 135                 140

Ala Thr Ile Leu Tyr Glu Ile Leu Leu Gly Lys Ala Thr Leu Tyr Ala
145                 150                 155                 160

Val Leu Val Ser Ala Leu Val Leu Met Ala Met Val Lys Arg Lys Asp
                165                 170                 175

Phe
```

<210> 486
<211> 623
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 486

```
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

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Thr Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Ala Trp Asp Ser Gly 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 His
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 Tyr Asn Val Tyr Tyr Asn Asn Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser
            100                 105                 110

Arg Asp Glu Tyr Asp Tyr 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

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val
                165                 170                 175

Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Thr
            180                 185                 190

Tyr Gly Ser Tyr Trp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
        195                 200                 205

Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Asn Arg Gly Gly Gly Tyr Thr Val Tyr
    210                 215                 220

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ala Lys
225                 230                 235                 240

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala
                245                 250                 255

Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Gly Val Leu Gly Gly Leu His Glu Asp
            260                 265                 270

Trp Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
        275                 280                 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    290                 295                 300
```

```
Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
305                 310                 315                 320

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
                325                 330                 335

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys
            340                 345                 350

Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
        355                 360                 365

Lys Val Ala His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser
    370                 375                 380

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val
385                 390                 395                 400

Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe
                405                 410                 415

Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            420                 425                 430

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
        435                 440                 445

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    450                 455                 460

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
465                 470                 475                 480

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
                485                 490                 495

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
            500                 505                 510

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
        515                 520                 525

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    530                 535                 540

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
545                 550                 555                 560
```

```
Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
                565                 570                 575

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Ala Ala
            580                 585                 590

Asp Tyr Lys Asp His Asp Gly Asp Tyr Lys Asp His Asp Ile Asp Tyr
        595                 600                 605

Lys Asp Asp Asp Asp Lys Gly Ala Ala His His His His His His
    610                 615                 620
```

<210> 487
<211> 589
<212> PRT
<213> Secuencia artificial

<220>
<223> Secuencia de Nanobody

<400> 487

```
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

Val Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Thr Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val
        35                  40                  45

Ala Thr Ile Ala Trp Asp Ser Gly 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 His
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 Tyr Asn Val Tyr Tyr Asn Asn Tyr Tyr Tyr Pro Ile Ser
            100                 105                 110

Arg Asp Glu Tyr Asp Tyr 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

Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val
                165                 170                 175

Gln Ala Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asp Thr
            180                 185                 190

Tyr Gly Ser Tyr Trp Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu
        195                 200                 205

Arg Glu Gly Val Ala Ala Ile Asn Arg Gly Gly Gly Tyr Thr Val Tyr
    210                 215                 220

Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Thr Ala Lys
225                 230                 235                 240

Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Asp Asp Thr Ala
                245                 250                 255

Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Ser Gly Val Leu Gly Gly Leu His Glu Asp
            260                 265                 270

Trp Phe Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly
        275                 280                 285

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly
    290                 295                 300

Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly
305                 310                 315                 320

Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro
                325                 330                 335

Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Asp Val His Lys
            340                 345                 350

Ile Asn Phe Leu Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu
        355                 360                 365

Lys Val Ala His Ile Ser Ile Gly Asp Gln Thr Asp Tyr Ala Asp Ser
    370                 375                 380

Ala Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Glu Ser Lys Asn Met Val
385                 390                 395                 400
```

```
Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe
                405                 410                 415

Cys Arg Ala Phe Ser Arg Ile Tyr Pro Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly
            420                 425                 430

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly
        435                 440                 445

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser
    450                 455                 460

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu Val Glu
465                 470                 475                 480

Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asn Ser Leu Arg Leu Ser Cys
                485                 490                 495

Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ser Phe Gly Met Ser Trp Val Arg
            500                 505                 510

Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val Ser Ser Ile Ser Gly Ser
        515                 520                 525

Gly Ser Asp Thr Leu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile
    530                 535                 540

Ser Arg Asp Asn Ala Lys Thr Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu
545                 550                 555                 560

Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Ile Gly Gly Ser Leu
                565                 570                 575

Ser Arg Ser Ser Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
            580                 585
```

REIVINDICACIONES

1. Polipéptido que comprende un primer y un segundo dominios variables únicos de inmunoglobulina (ISV), en el que

- dicho primer ISV tiene alta afinidad por/se une al dominio constante del receptor de células T (TCR) presente en una célula T;

- dicho segundo ISV tiene alta afinidad por/se une a un primer antígeno en una célula diana;

en el que dicho primer antígeno es diferente de dicho TCR; y

en el que dicha célula diana es diferente de dicha célula T, y

en el que dicho primer ISV consiste esencialmente en 4 regiones de entramado (FR1 a FR4, respectivamente) y 3 regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3, respectivamente), en las que:

(i) CDR1 se elige del grupo que consiste en:

(a) SEQ ID NO:119-133; o

(b) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:123 o con cualquiera de SEQ ID NO:119-133; y/o

(ii) CDR2 se elige del grupo que consiste en:

(c) SEQ ID NO:134-163; o

(d) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:153 o con cualquiera de SEQ ID NO:134-163; y/o

(iii) CDR3 se elige del grupo que consiste en:

(e) SEQ ID NO:164-174; o

(f) secuencias de aminoácidos que tienen una diferencia de 4, 3, 2 ó 1 aminoácido(s) con la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:170 o con cualquiera de SEQ ID NO:164-174.

2. Polipéptido según la reivindicación 1, que comprende además un tercer ISV, que tiene una alta afinidad por/se une a un segundo antígeno en una célula diana, en el que dicho segundo antígeno es diferente de dicho primer antígeno.

3. Polipéptido según la reivindicación 1 ó 2, en el que dicho primer antígeno en una célula diana es un antígeno tumoral, preferiblemente un antígeno asociado a tumores (TAA).

4. Polipéptido según la reivindicación 2 ó 3, en el que dicho segundo antígeno en una célula diana es un antígeno tumoral, preferiblemente un antígeno asociado a tumores (TAA).

5. Polipéptido según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 4, en el que dicho(s) TAA se elige(n) independientemente del grupo que consiste en proteoglicano de sulfato de condroitina asociado a melanoma (MCSP), receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGFR), proteína de activación de fibroblastos (FAP), MART-1, antígeno carcinoembrionario (CEA), gp100, MAGE-1, HER-2, antígenos de Lewis^{Y}, CD123, CD44, CLL-1, CD96, CD47, CD32, CXCR4, Tim-3, CD25, TAG-72, Ep-CAM, PSMA, PSA, GD2, GD3, CD4, CD5, CD19, CD20, CD22, CD33, CD36, CD45, CD52, CD147, receptores de factores de crecimiento incluyendo ErbB3 y ErbB4, receptores de citocinas incluyendo la cadena gamma del receptor de interleucina-2 (antígeno CD132), cadena alfa del receptor de interleucina-10 (IL-10R-A), cadena beta del receptor de interleucina-10 (IL-10R-B), cadena beta-1 del receptor de interleucina-12 (IL-12R-beta1), cadena beta-2 del receptor de interleucina-12 (receptor de IL-12 beta-2), cadena alfa-1 del receptor de interleucina-13 (IL-13R-alfa-1) (antígeno CD213a1), cadena alfa-2 del receptor de interleucina-13 (proteína de unión a interleucina-13), receptor de interleucina-17 (receptor de IL-17), receptor de interleucina-17B (receptor de IL-17B), precursor del receptor de interleucina 21 (IL-21R), receptor de interleucina-1 tipo I (IL-1R-1) (CD121a), receptor de interleucina-1 tipo II (IL-1R-beta) (CDw121b), proteína antagonista del receptor de interleucina-1 (IL-1ra), cadena alfa del receptor de interleucina-2 (antígeno CD25), cadena beta del receptor de interleucina-2 (antígeno CD122), cadena alfa del receptor de interleucina-3 (IL-3R-alfa) (antígeno CD123), CD30, IL23R, IGF-1R, IL5R, IgE, CD248 (endosialina), CD44v6, gpA33, Ron, Trop2,

PSCA, claudina 6, claudina 18.2, CLEC12A, CD38, ephA2, c-Met, CD56, MUC16, EGFRvIII, AGS-16, CD27L, nectina-4, SLITRK6, mesotelina, receptor de folato, factor tisular, axl, glipicano-3, CA9, Cripto, CD138, CD37, MUC1, CD70, receptor de péptido liberador de gastrina, PAP, CEACAM5, CEACAM6, CXCR7, N-cadherina, FXYD2 gamma a, CD21, CD133, Na/K-ATPasa, mIgM (IgM unida a membrana), mIgA (IgA unida a membrana), Mer, Tyro2, CD120, CD95, CA 195, DR5, DR6, DcR3 y CAIX, y variantes polimórficas e isoformas relacionadas.

6. Polipéptido según cualquiera de las reivindicaciones 3 a 5, en el que dicho primer antígeno y dicho segundo antígeno se eligen del grupo que consiste en:

- EGFR como primer antígeno y CEA como segundo antígeno;
- CD19 como primer antígeno y CD20 como segundo antígeno;
- CD19 como primer antígeno y CD22 como segundo antígeno;
- CD123 como primer antígeno y Tim-3 como segundo antígeno; y
- CD123 como primer antígeno y CD69 como segundo antígeno.

7. Polipéptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, que comprende además un resto de unión a proteínas séricas.

8. Polipéptido según la reivindicación 7, en el que dicho resto de unión a proteínas séricas es un ISV que se une a albúmina sérica.

9. Ácido nucleico o secuencia de ácido nucleico que codifica para el polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 o un vector que comprende dicho ácido nucleico o dicha secuencia de ácido nucleico.

10. Célula huésped transformada o transfectada con el ácido nucleico o la secuencia de ácido nucleico o con el vector según la reivindicación 9.

11. Procedimiento para la producción del polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, comprendiendo dicho procedimiento cultivar una célula huésped según la reivindicación 10 en condiciones que permitan la expresión del polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 y recuperar el polipéptido producido a partir del cultivo.

12. Composición farmacéutica que comprende el polipéptido según una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o el polipéptido producido según el procedimiento de la reivindicación 11.

13. Polipéptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o producido según el procedimiento de la reivindicación 11, para su uso en el tratamiento de un sujeto que lo necesita.

14. Polipéptido según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, o producido según el procedimiento de la reivindicación 11, para uso en la prevención, el tratamiento o la mejora de una enfermedad seleccionada del grupo que consiste en una enfermedad proliferativa, una enfermedad inflamatoria, una enfermedad infecciosa y una enfermedad autoinmunitaria.

15. Polipéptido para su uso según la reivindicación 14, en el que dicha enfermedad proliferativa es cáncer.

16. Polipéptido para su uso según la reivindicación 15, en el que dicho cáncer se elige del grupo que consiste en carcinomas, gliomas, mesoteliomas, melanomas, linfomas, leucemias, adenocarcinomas: cáncer de mama, cáncer de ovario, cáncer cervicouterino, glioblastoma, mieloma múltiple (incluyendo gammapatía monoclonal de significación indeterminada, mieloma asintomático y sintomático), cáncer de próstata y linfoma de Burkitt, cáncer de cabeza y cuello, cáncer de colon, cáncer colorrectal, cáncer de pulmón de células no pequeñas, cáncer de pulmón de células pequeñas, cáncer de esófago, cáncer de estómago, cáncer de páncreas, cáncer hepatobiliar, cáncer de vesícula biliar, cáncer de intestino delgado, cáncer rectal, cáncer de riñón, cáncer de vejiga, cáncer de próstata, cáncer de pene, cáncer de uretra, cáncer de testículo, cáncer de vagina, cáncer uterino, cáncer de tiroides, cáncer de paratiroides, cáncer suprarrenal, cáncer de páncreas endocrino, cáncer carcinoide, cáncer de hueso, cáncer de piel, retinoblastomas, linfoma de Hodgkin, linfoma no Hodgkin, sarcoma de Kaposi, enfermedad de Castleman multicéntrica o linfoma primario de cavidades asociado al SIDA, tumores neuroectodérmicos, rabdomiosarcoma; así como cualquier metástasis de cualquiera de los cánceres anteriores, así como indicaciones distintas de cáncer tales como poliposis nasal.

Figura 1:

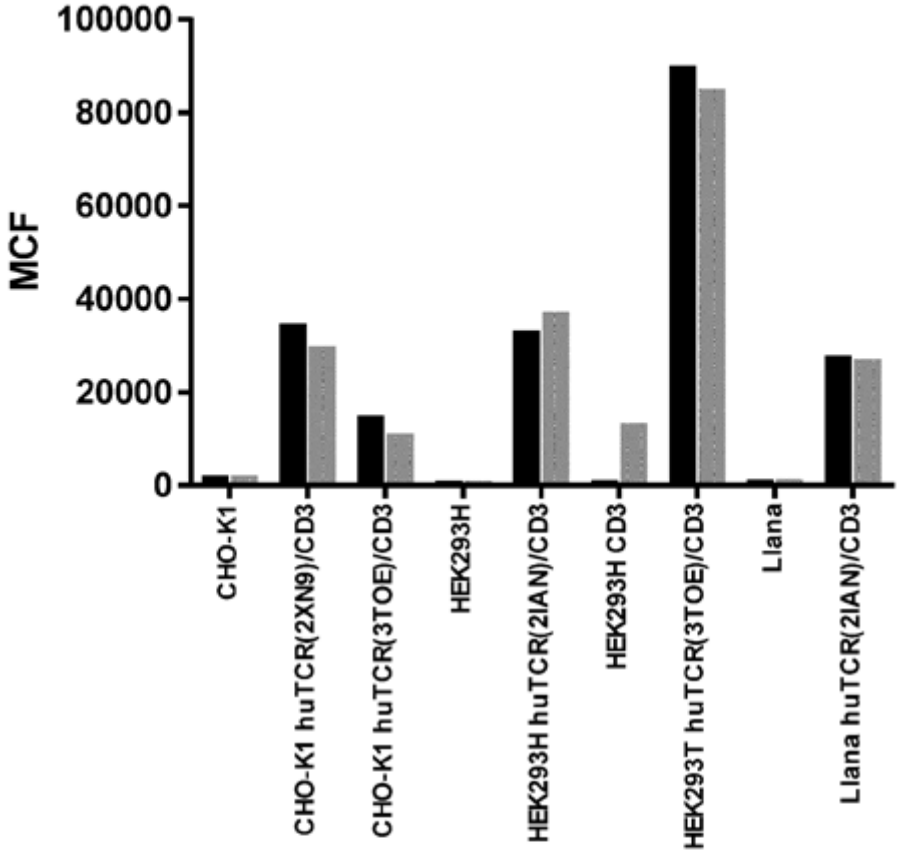


Figura 2:

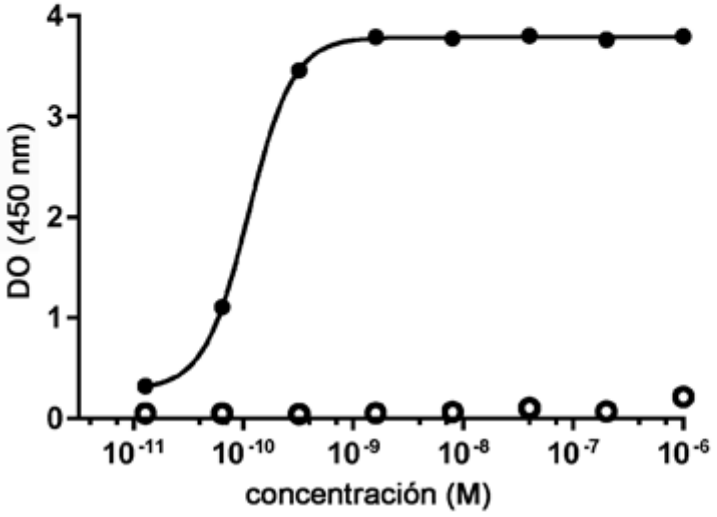


Figura 3:

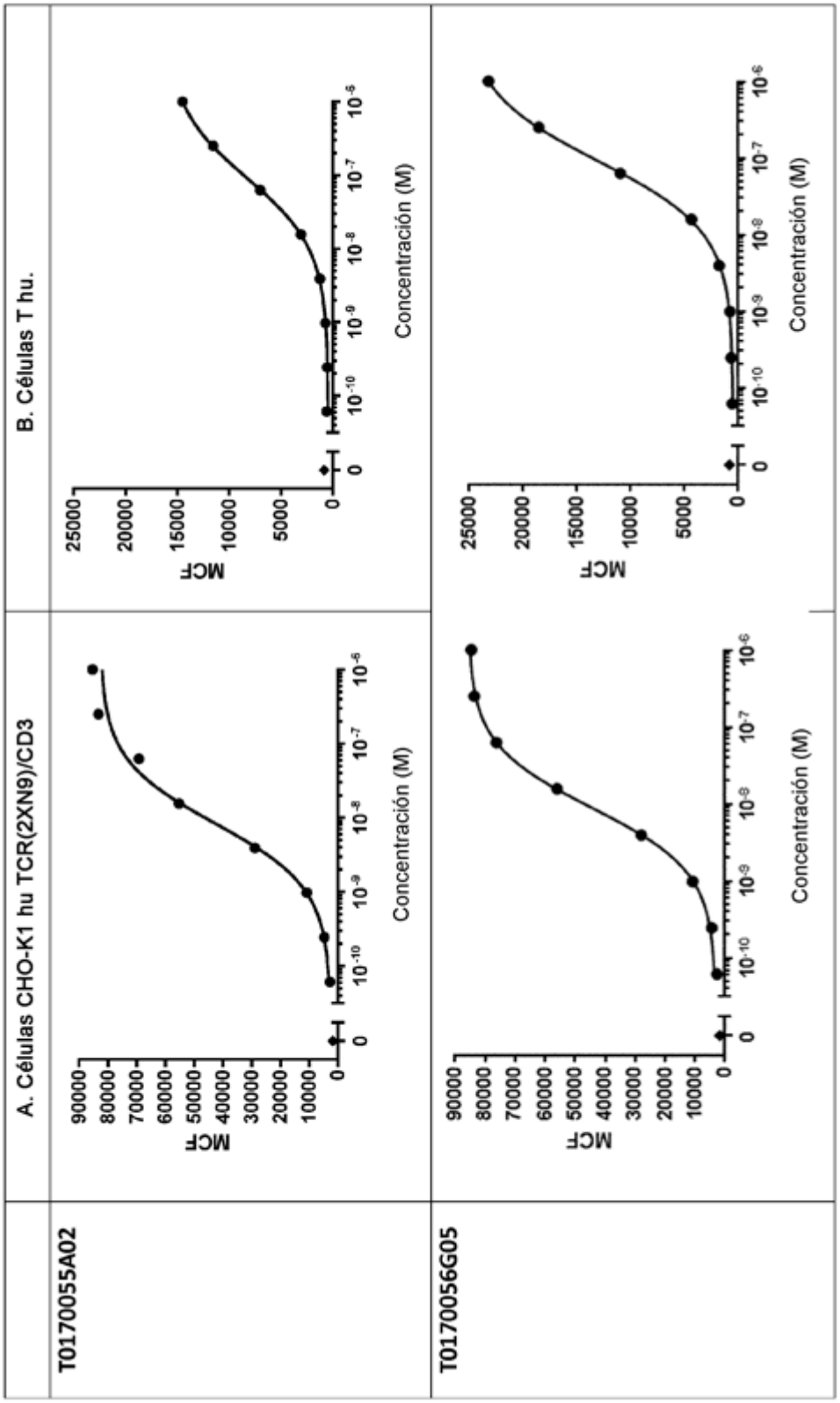

A. Células CHO-K1 hu TCR(2XN9)/CD3
B. Células T hu.
T0170055A02
T0170056G05
MCF
Concentración (M)

Figura 3 cont.:

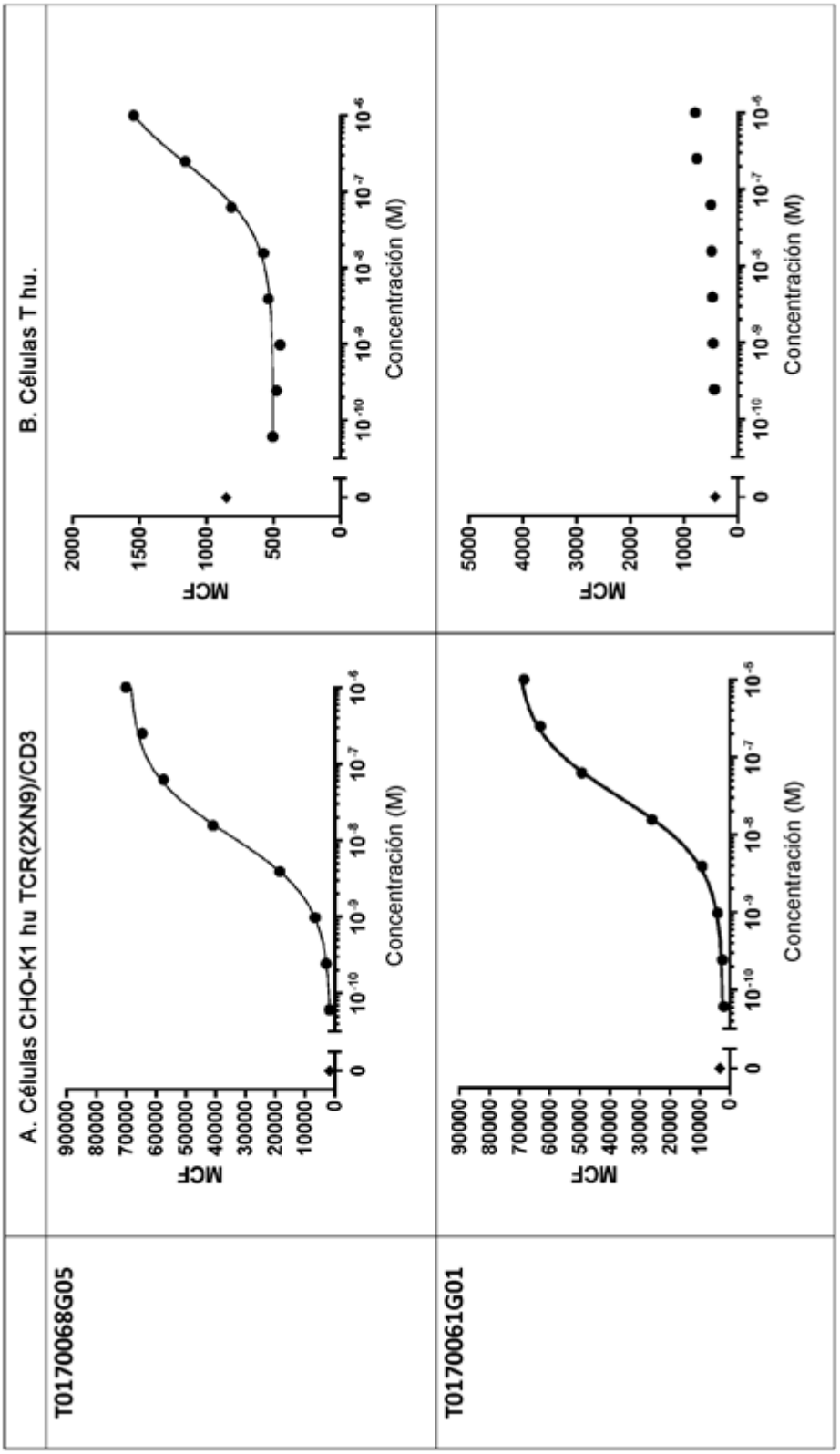


Figura 4:

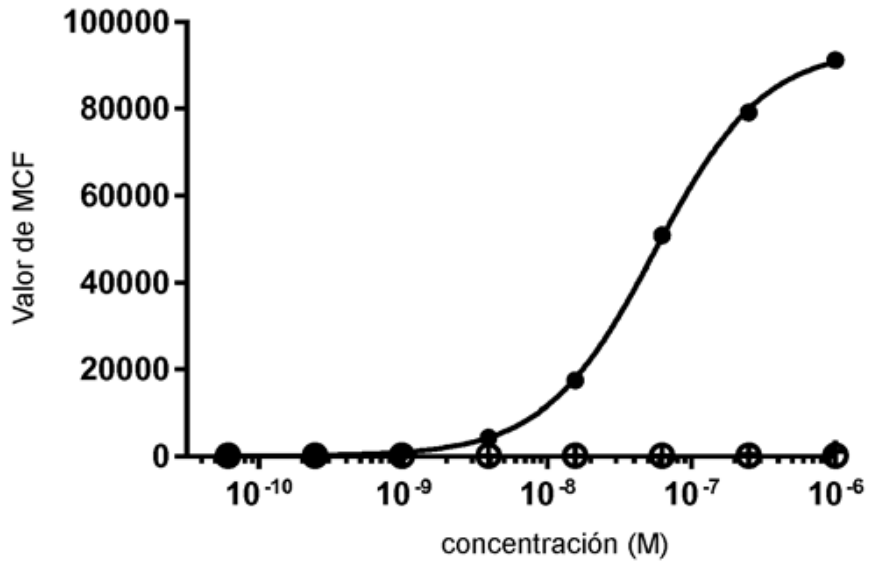
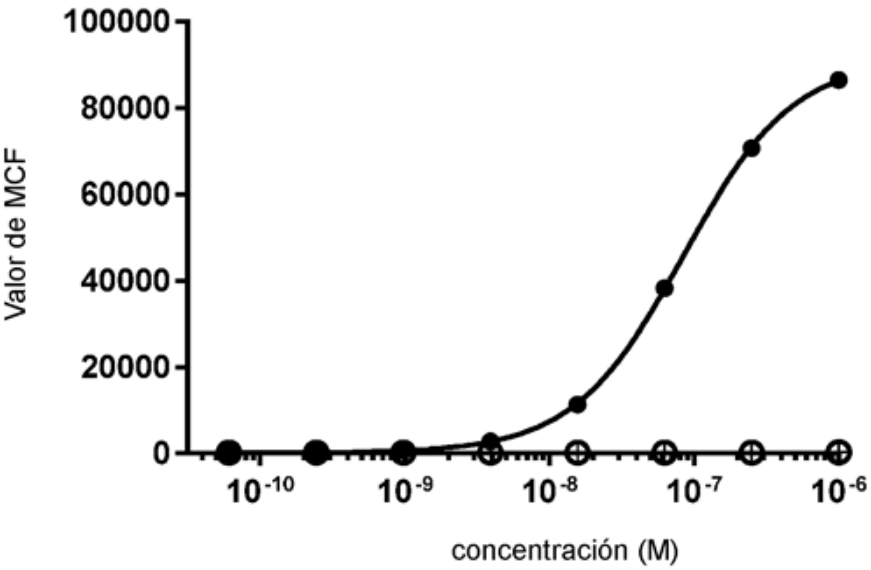
T0170055A02	
T0170056G05	

Figura 4 cont.:

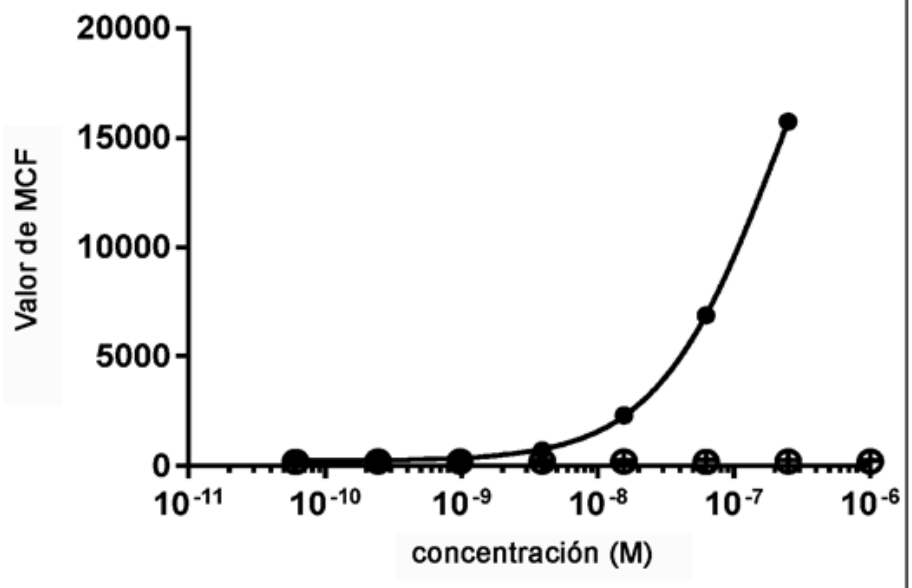
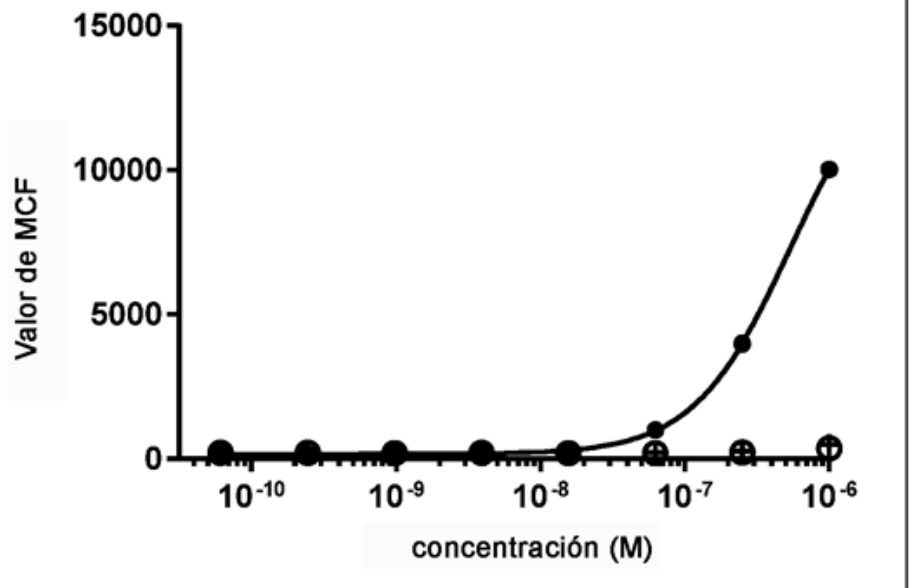
T0170068G05	
T0170061G01	

Figura 5:

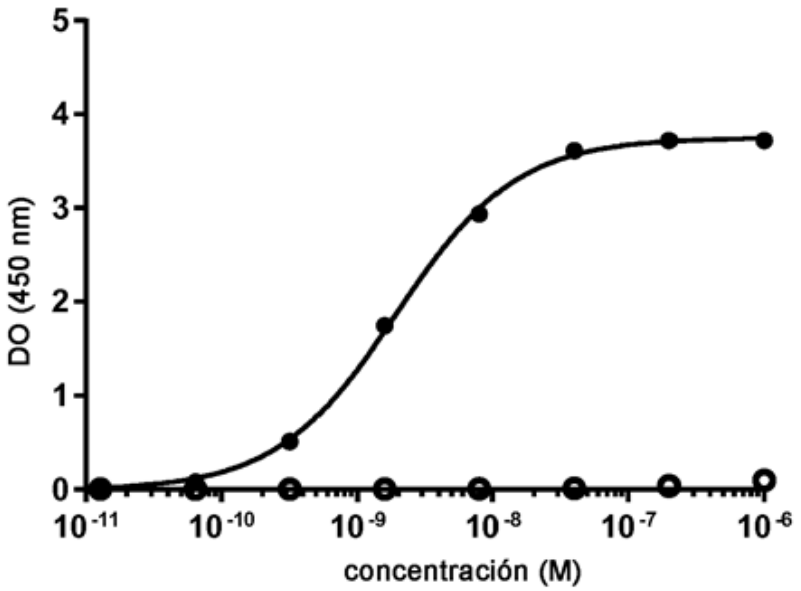
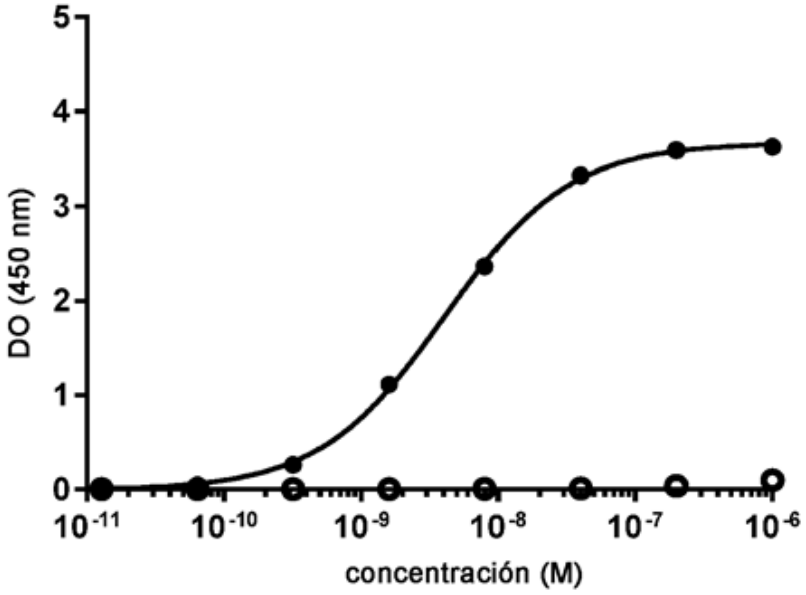
T0170055A02	
T0170056G05	

Figura 5 cont.:

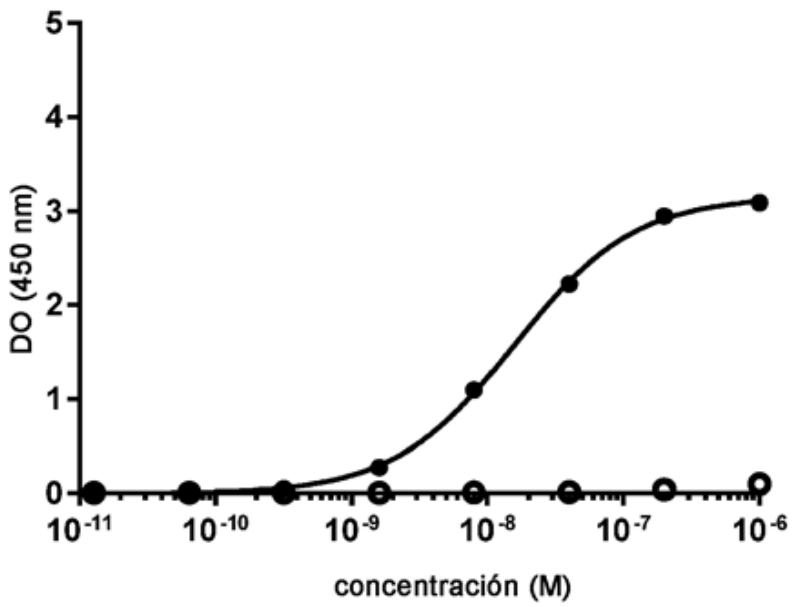
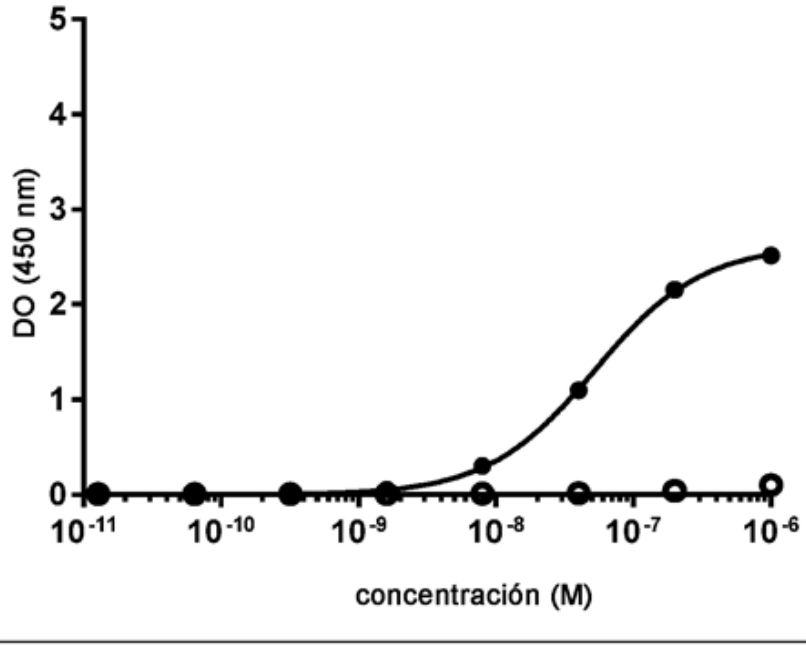
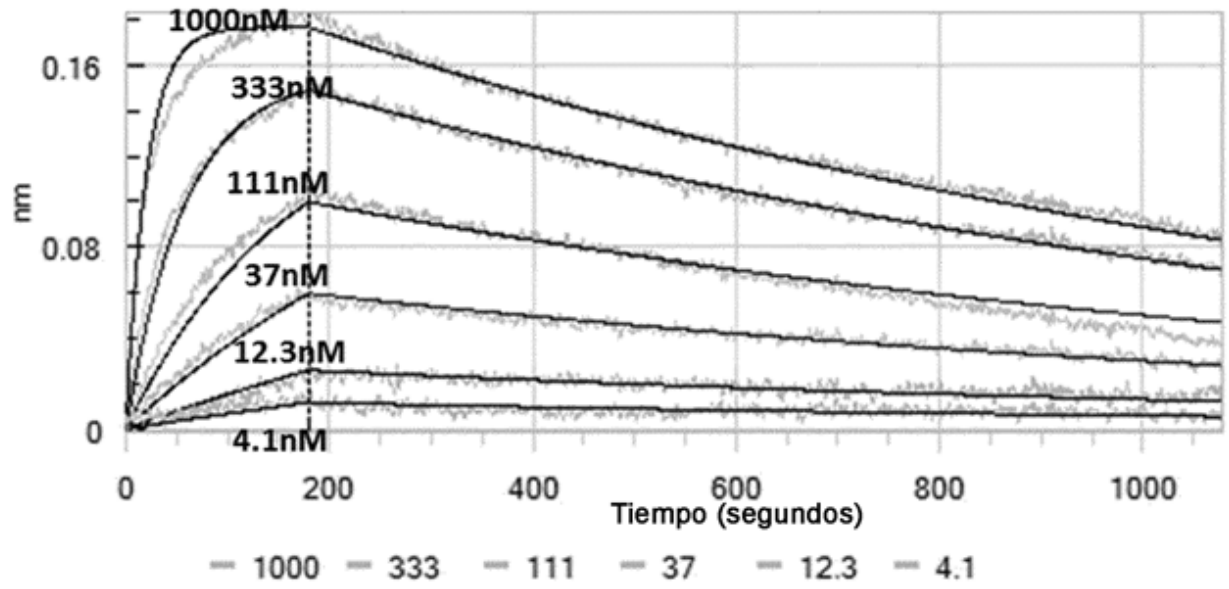
T0170068G05	
T0170061G01	

Figura 6:

A.


1000nM
333nM
111nM
37nM
12.3nM
4.1nM
0.16
0.08
0
nm
0
200
400
600
800
1000
Tiempo (segundos)
1000
333
111
37
12.3
4.1

B.

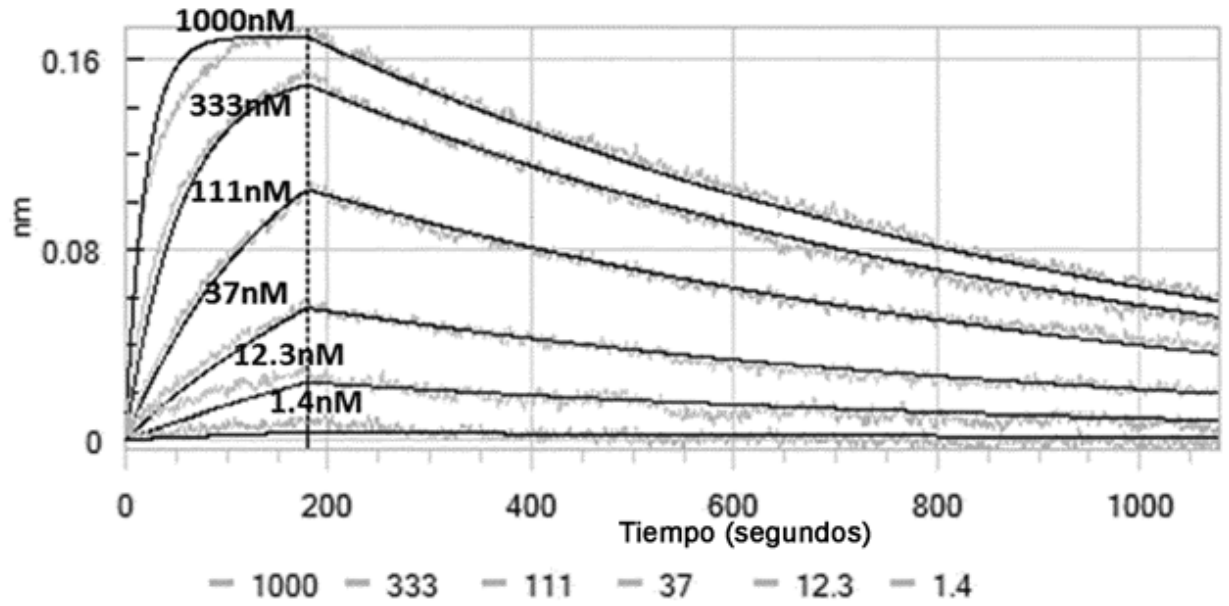
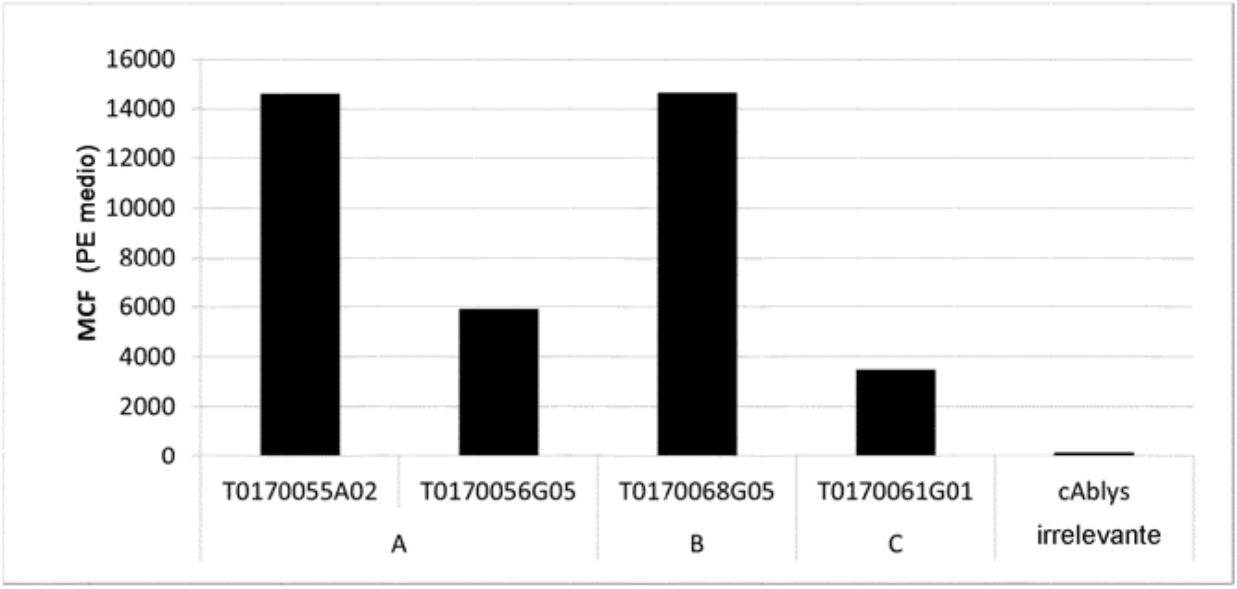

1000nM
333nM
111nM
37nM
12.3nM
1.4nM
0.16
0.08
0
nm
0
200
400
600
800
1000
Tiempo (segundos)
1000
333
111
37
12.3
1.4

Figura 7:

A.


16000
14000
12000
10000
8000
6000
4000
2000
0
MCF (PE medio)
T0170055A02
T0170056G05
T0170068G05
T0170061G01
cAblys irrelevante
A
B
C

B.

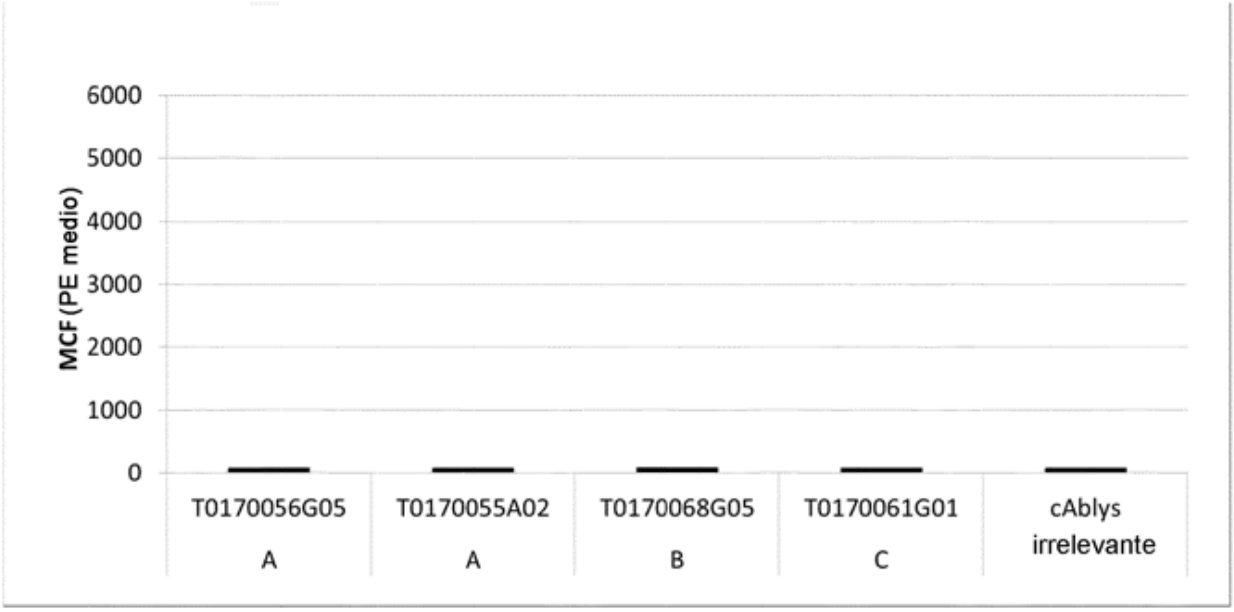

6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
MCF (PE medio)
T0170056G05
T0170055A02
T0170068G05
T0170061G01
cAblys irrelevante
A
A
B
C

Figura 8:

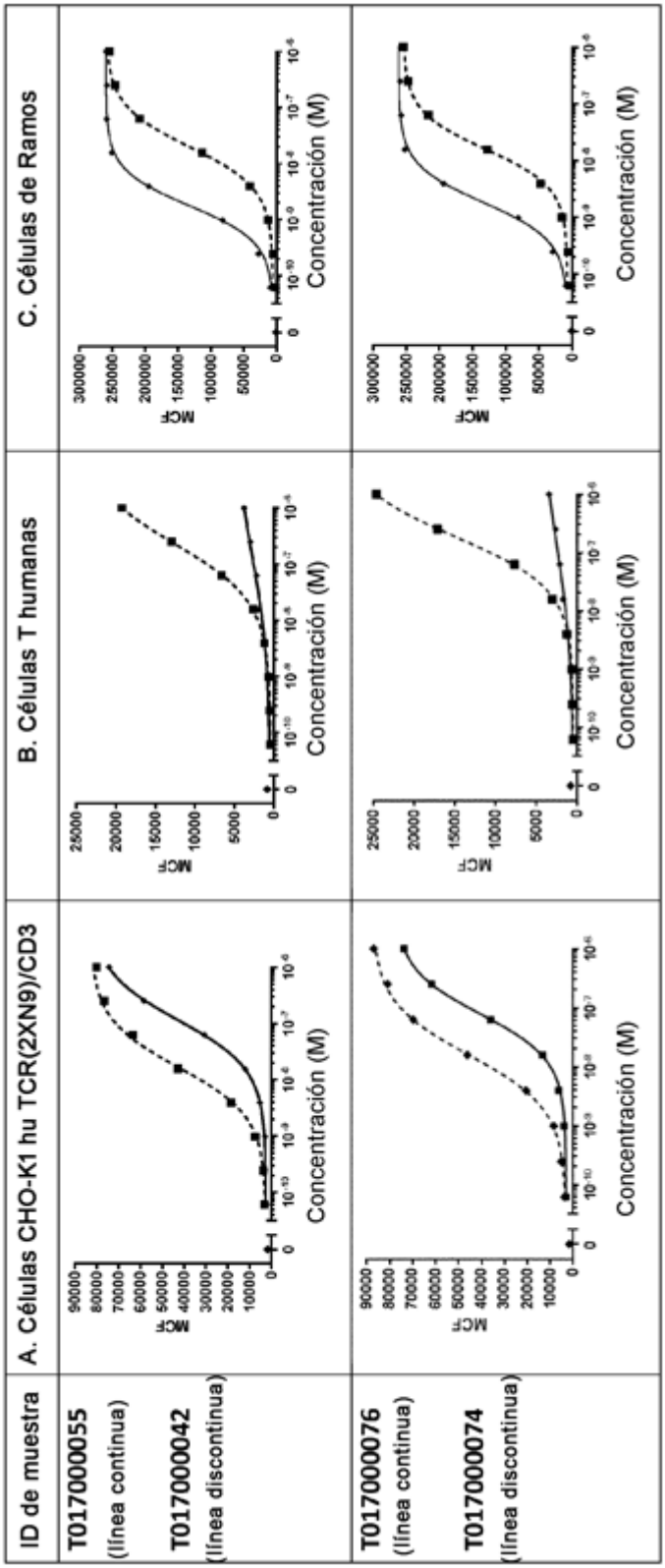

ID de muestra
A. Células CHO-K1 hu TCR(2XN9)/CD3
B. Células T humanas
C. Células de Ramos
T017000055
(línea continua)
T017000042
(línea discontinua)
T017000076
(línea continua)
T017000074
(línea discontinua)
MCF
Concentración (M)

Figura 8 cont.:

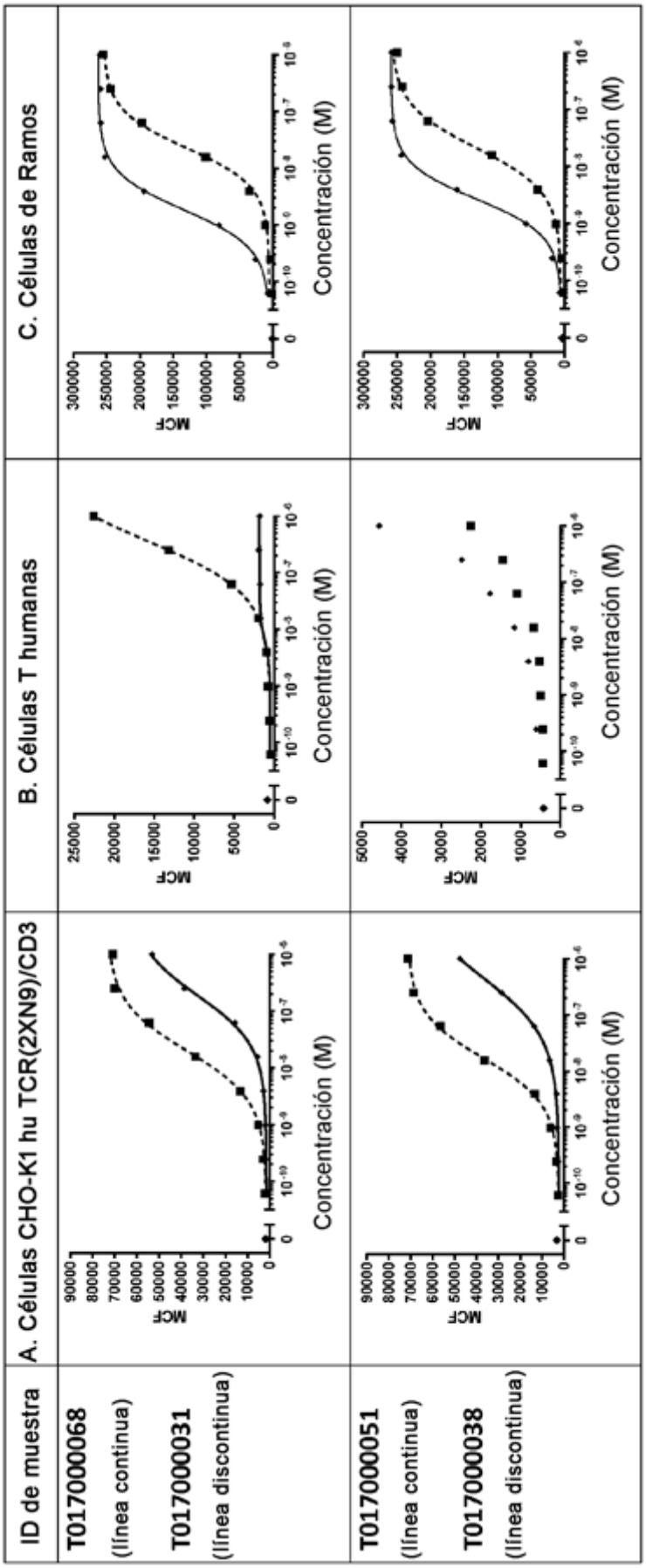


Figura 9:

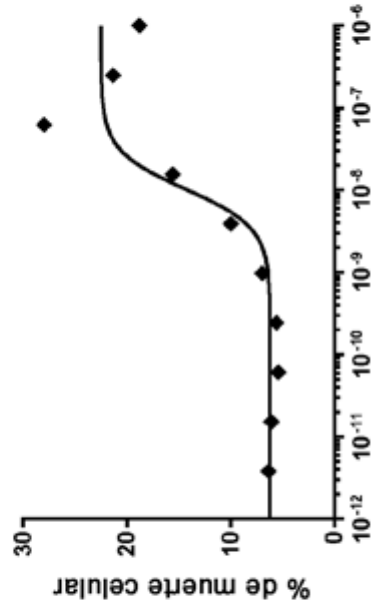
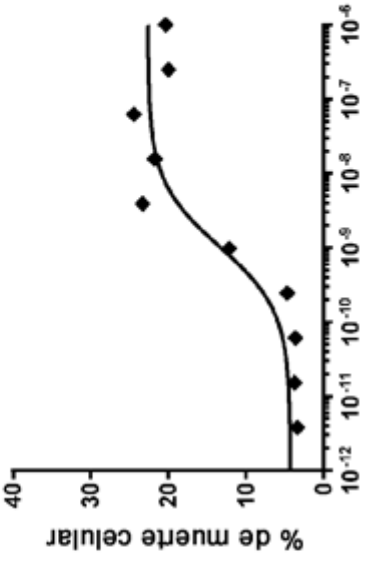
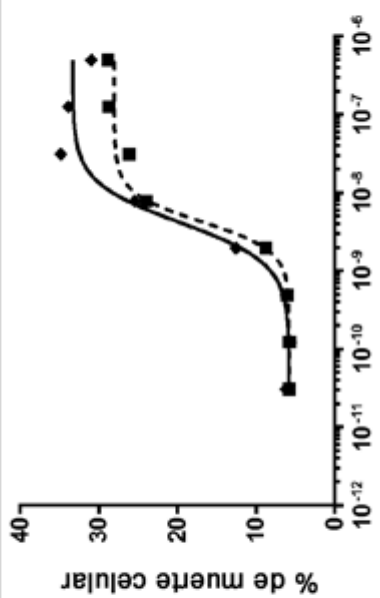
ID de muestra	A. Células de Ramos	B. Células de Raji
T017000014 (línea continua)		
T017000055 (línea continua) **T017000042** (línea discontinua)		

Figura 9 cont.:

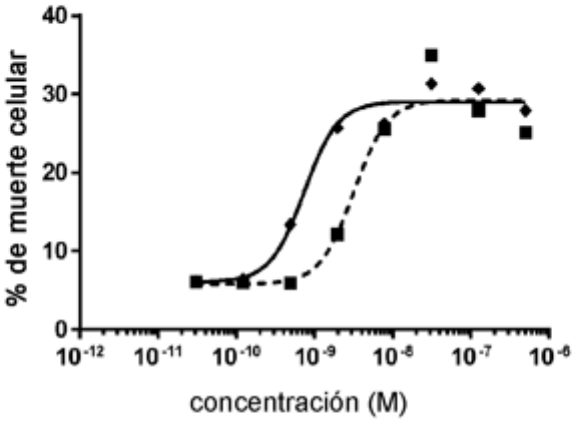
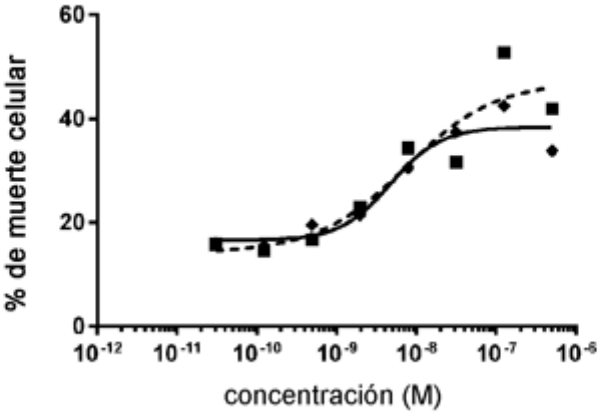
ID de muestra	A. Células de Ramos	B. Células de Raji
T017000076 (línea continua) **T017000074** (línea discontinua)		
T017000068 (línea continua) **T017000031** (línea discontinua)		

Figura 9 cont.:

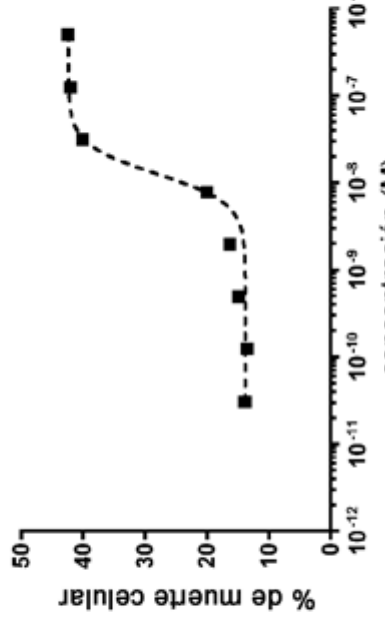
ID de muestra	A. Células de Ramos	B. Células de Raji
T017000038 (línea discontinua)		

Figura 10:

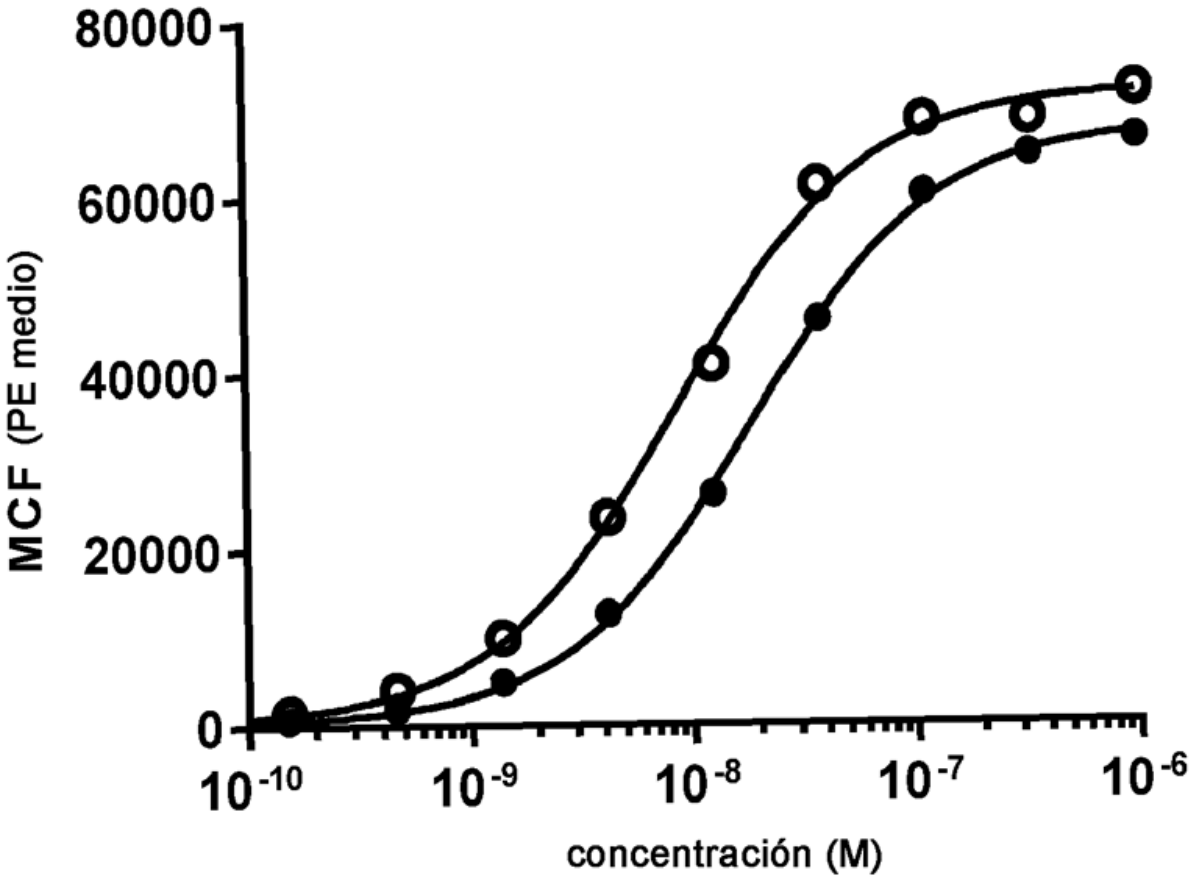

80000
60000
40000
20000
0
MCF (PE medio)
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
concentración (M)

Figura 11:

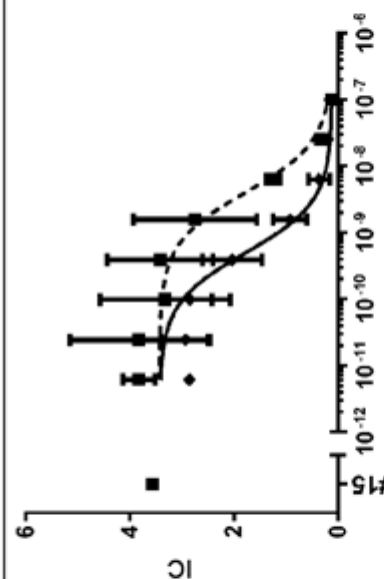
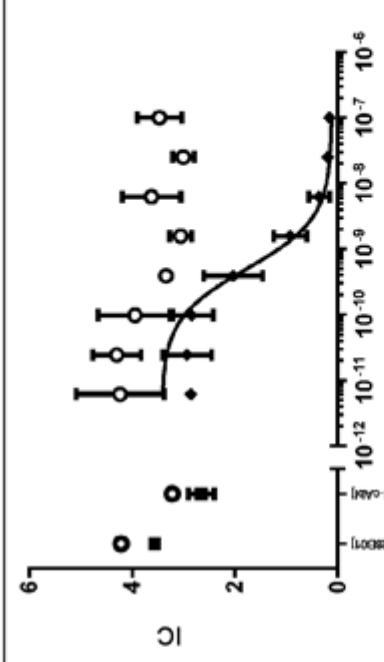
ID de muestra	A. Células CHO-K1 CD20	B. Células CHO-K1 hu CD20 y células CHO-K1
T017000055 (línea continua) **T017000042** (línea discontinua)		
T017000076 (línea continua) **T017000074** (línea discontinua)		

Figura 11 cont.:

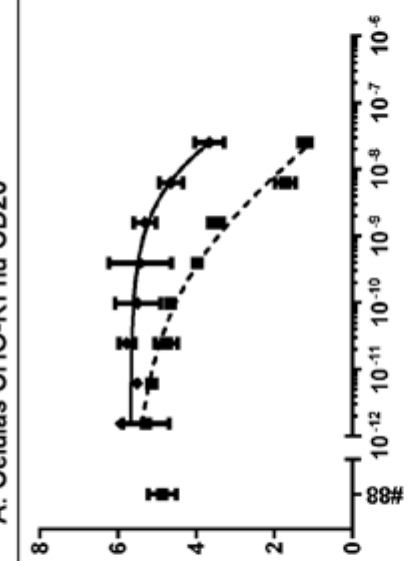
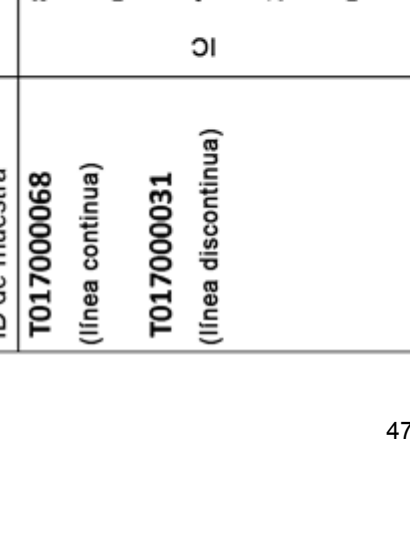
ID de muestra	A. Células CHO-K1 hu CD20	B. Células CHO-K1 hu CD20 y células CHO-K1
T017000068 (línea continua) **T017000031** (línea discontinua)		
T017000051 (línea continua) **T017000038** (línea discontinua)		

Figura 12:

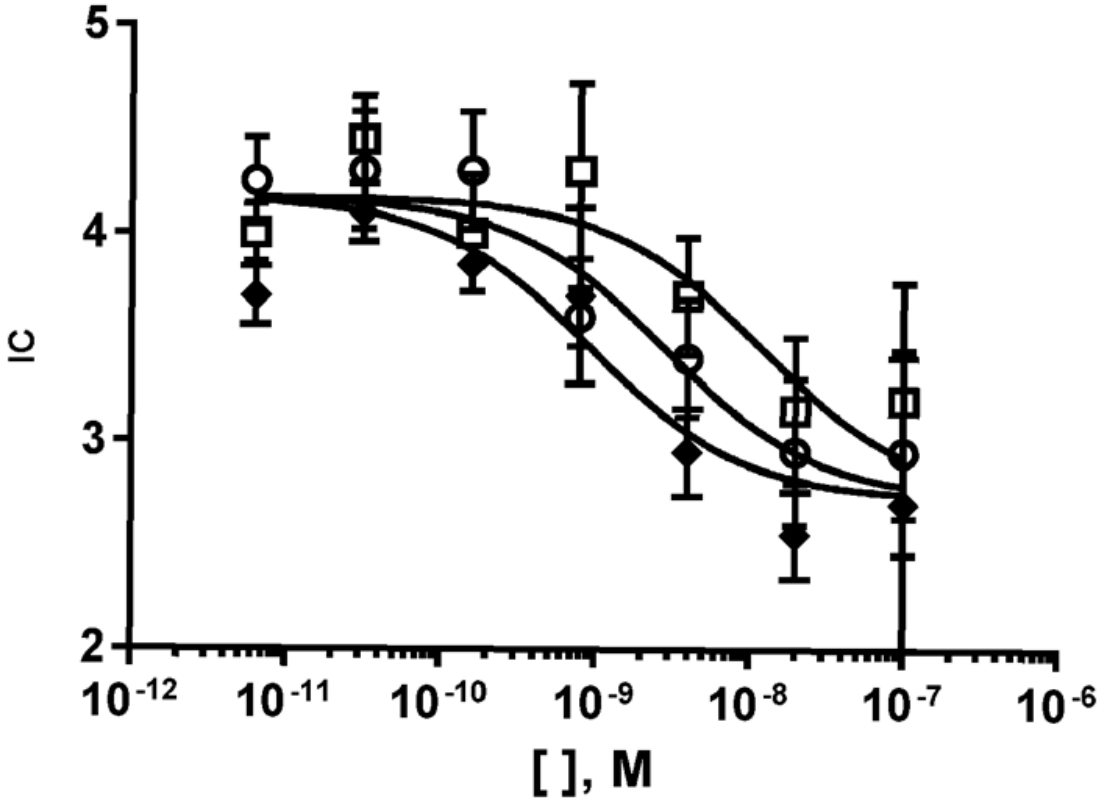


Figura 13:

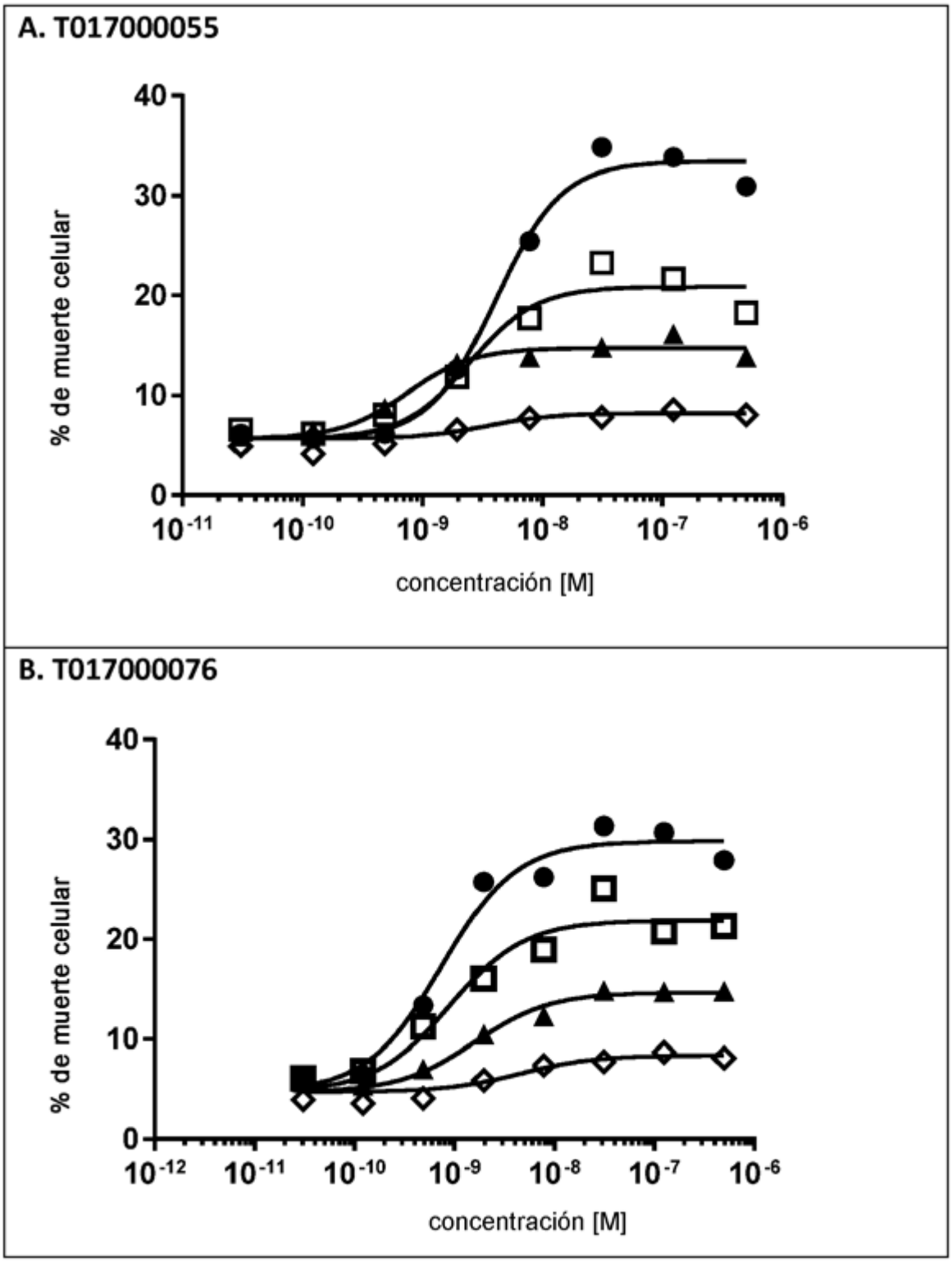

A. T017000055
% de muerte celular
40
30
20
10
0
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
concentración [M]
B. T017000076
% de muerte celular
40
30
20
10
0
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
concentración [M]

Figura 14:

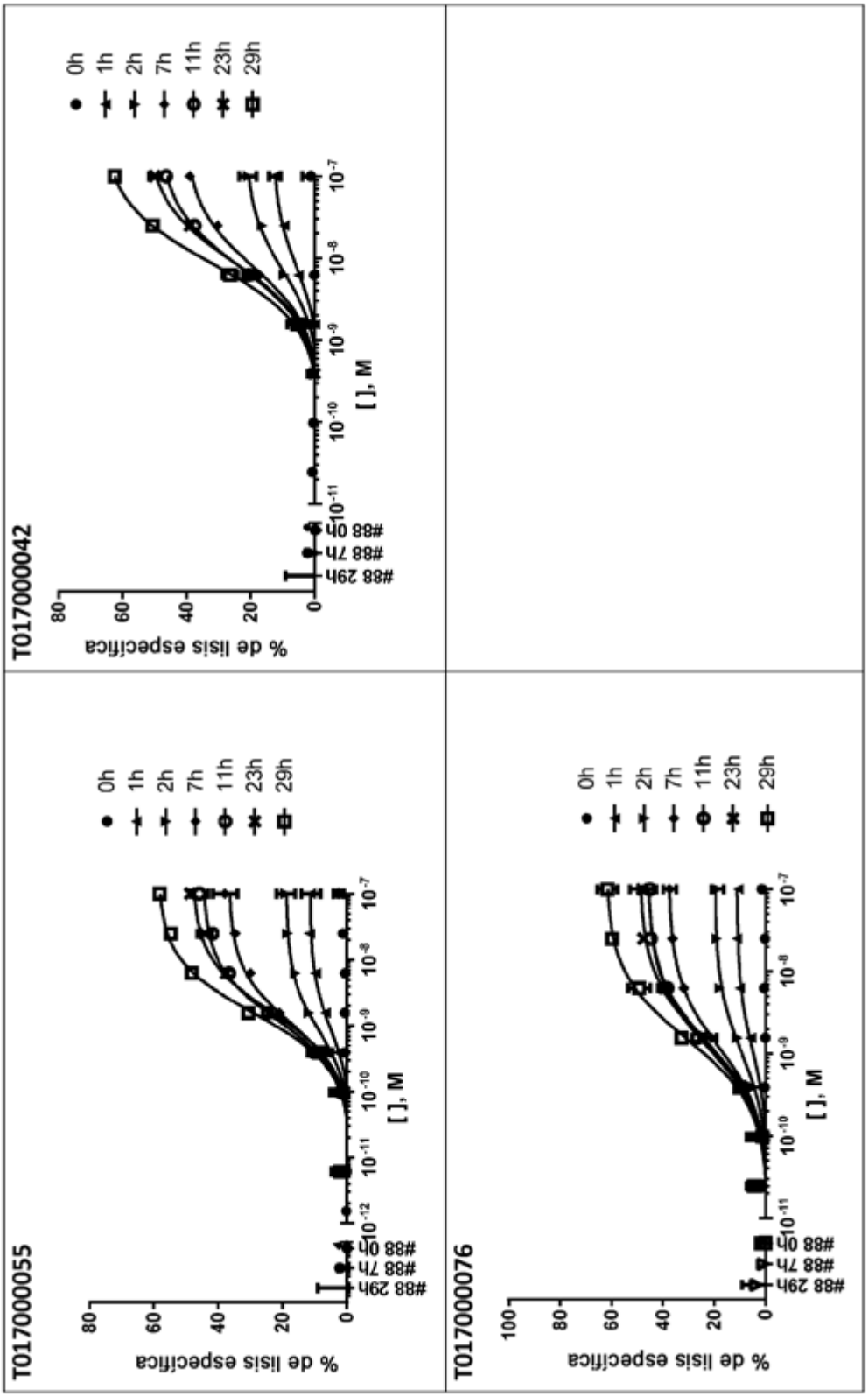

T017000042
T017000055
T017000076
% de lisis especifica
[ ], M
0h
1h
2h
7h
11h
23h
29h
#88 0h
#88 7h
#88 29h

Figura 15:

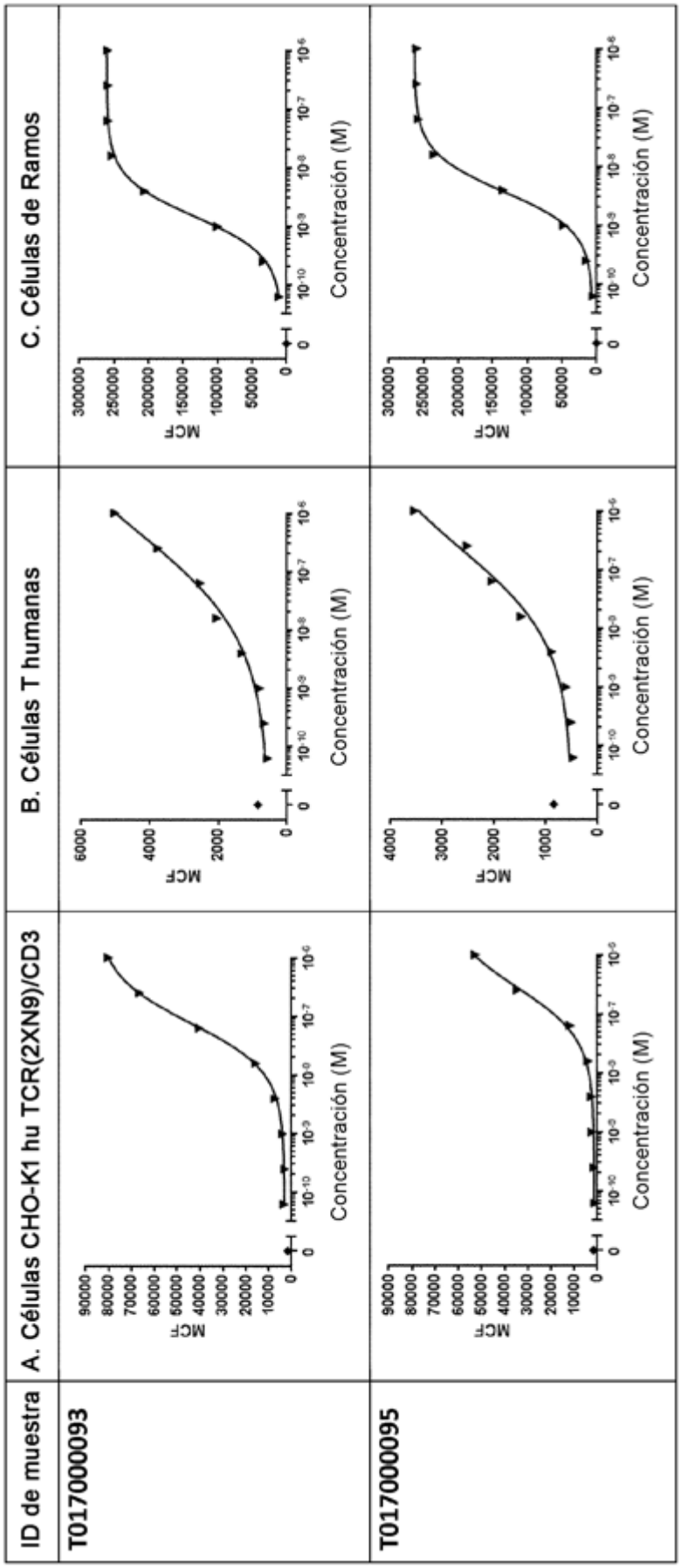

ID de muestra
A. Células CHO-K1 hu TCR(2XN9)/CD3
B. Células T humanas
C. Células de Ramos
T017000093
T017000095
MCF
Concentración (M)

Figura 16:

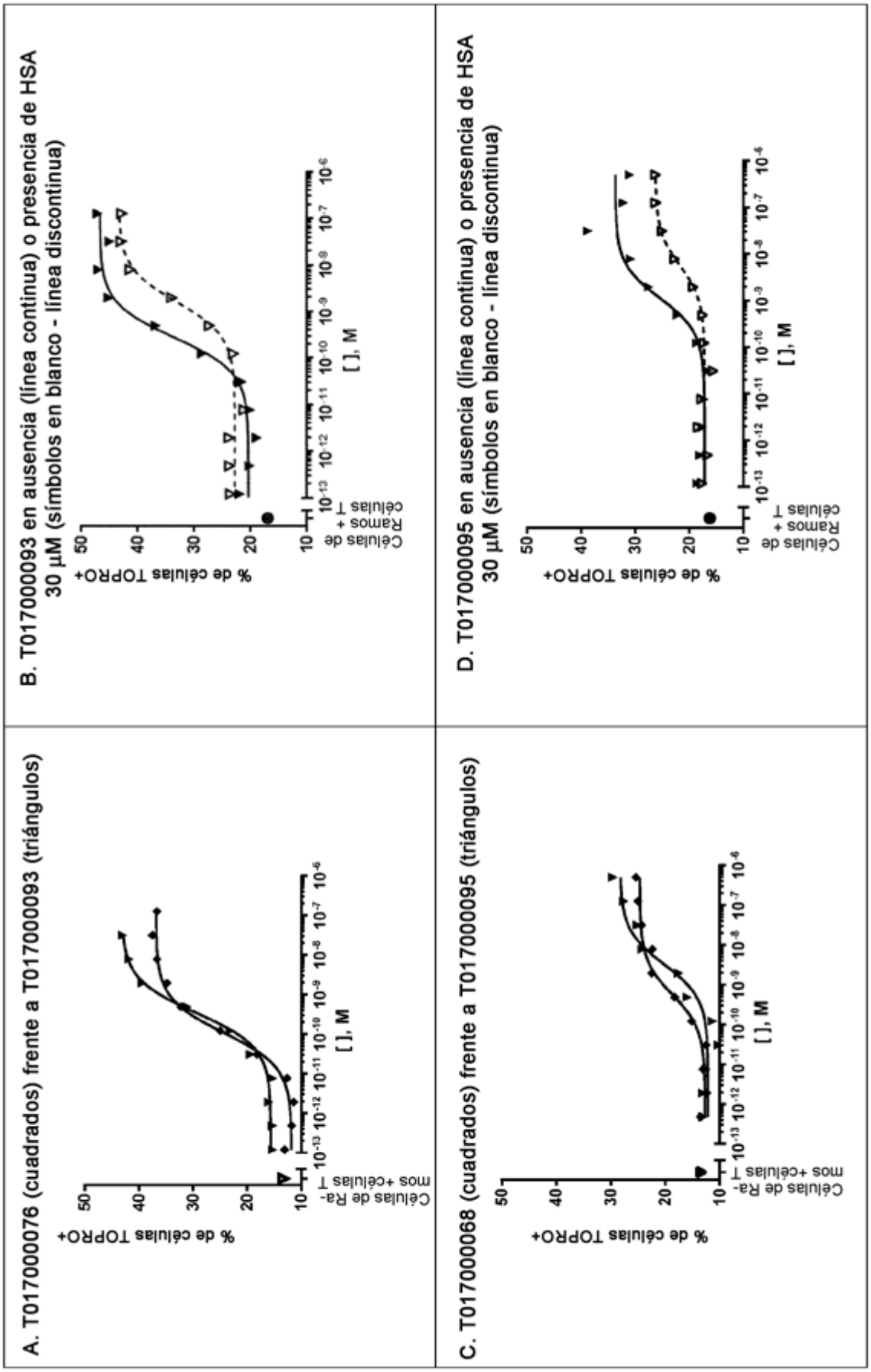

A. T017000076 (cuadrados) frente a T017000093 (triángulos)
% de células TOPRO+
Células de Ramos +células T
[ ], M
B. T017000093 en ausencia (línea continua) o presencia de HSA 30 µM (símbolos en blanco - línea discontinua)
% de células TOPRO+
Células de Ramos + células T
[ ], M
C. T017000068 (cuadrados) frente a T017000095 (triángulos)
% de células TOPRO+
Células de Ramos +células T
[ ], M
D. T017000095 en ausencia (línea continua) o presencia de HSA 30 µM (símbolos en blanco - línea discontinua)
% de células TOPRO+
Células de Ramos + células T
[ ], M

Figura 17:

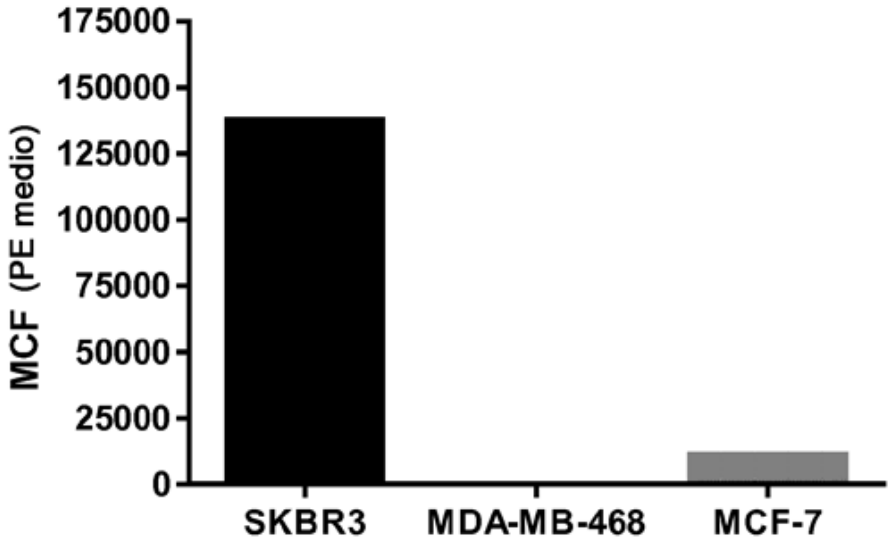


Figura 18:

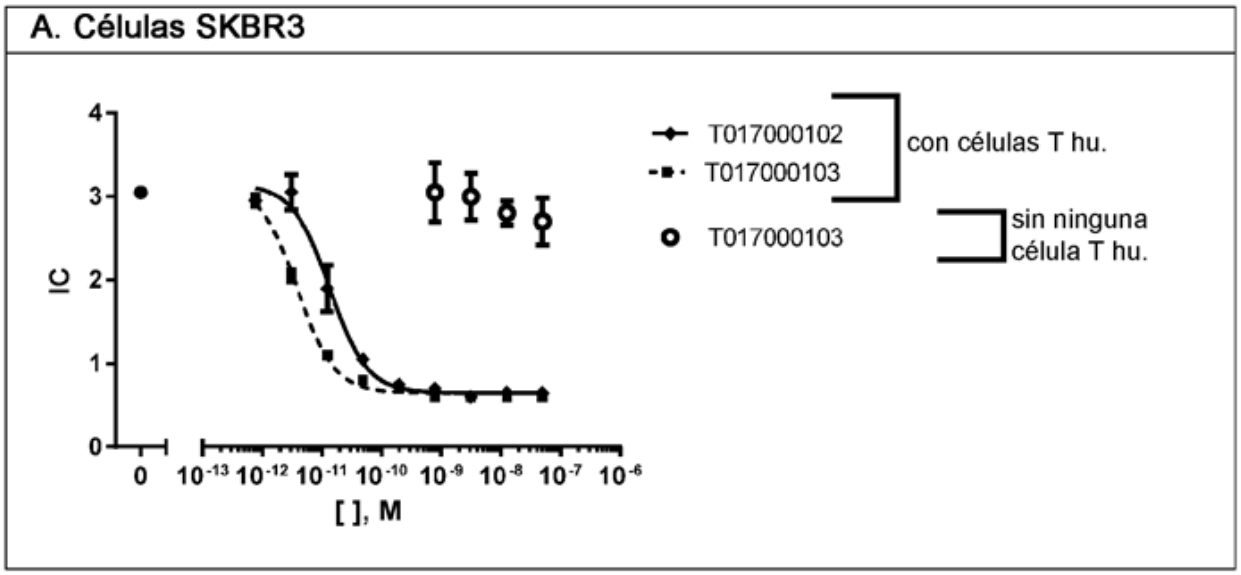


Figura 18 cont.:

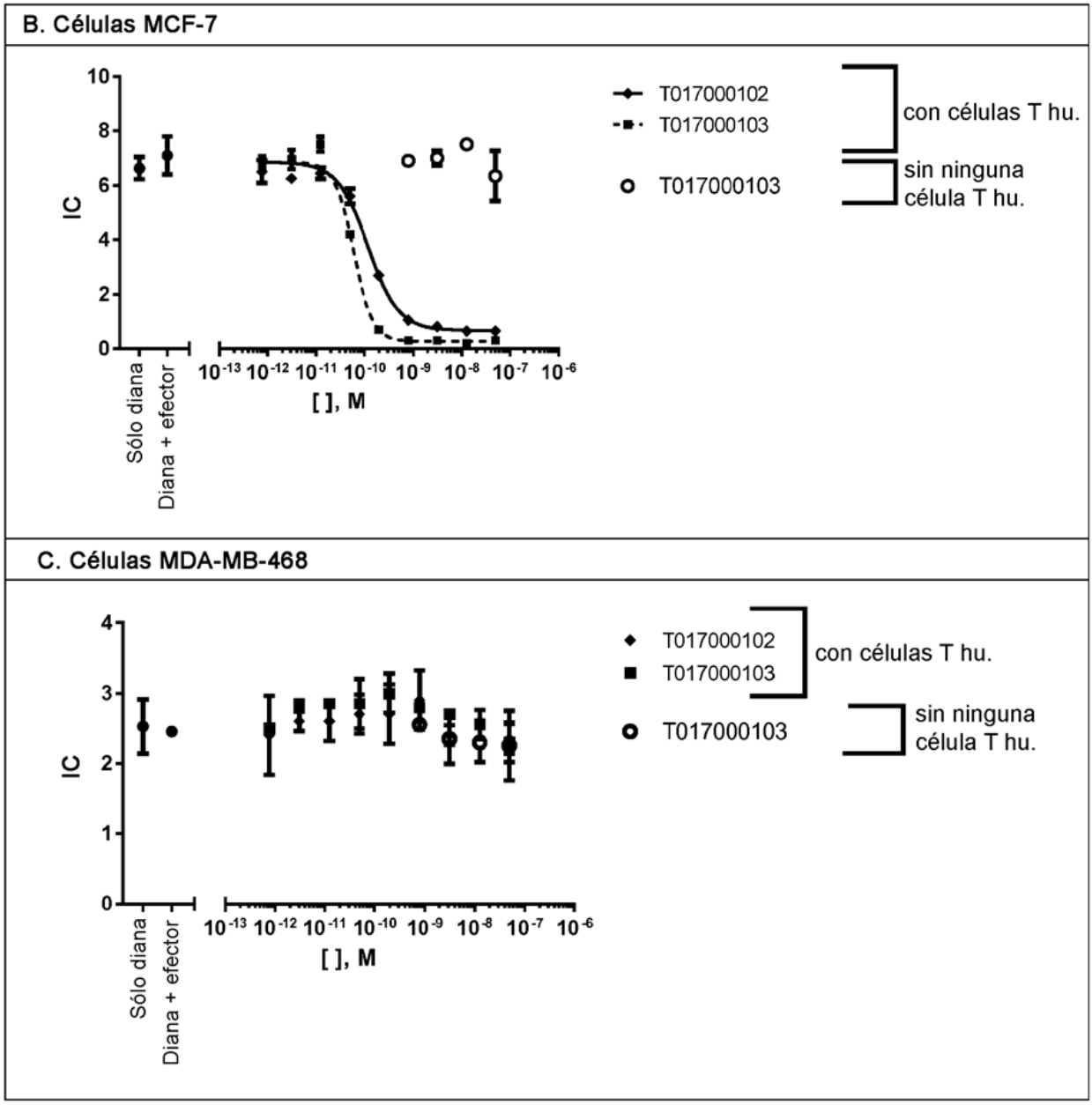


Figura 19:

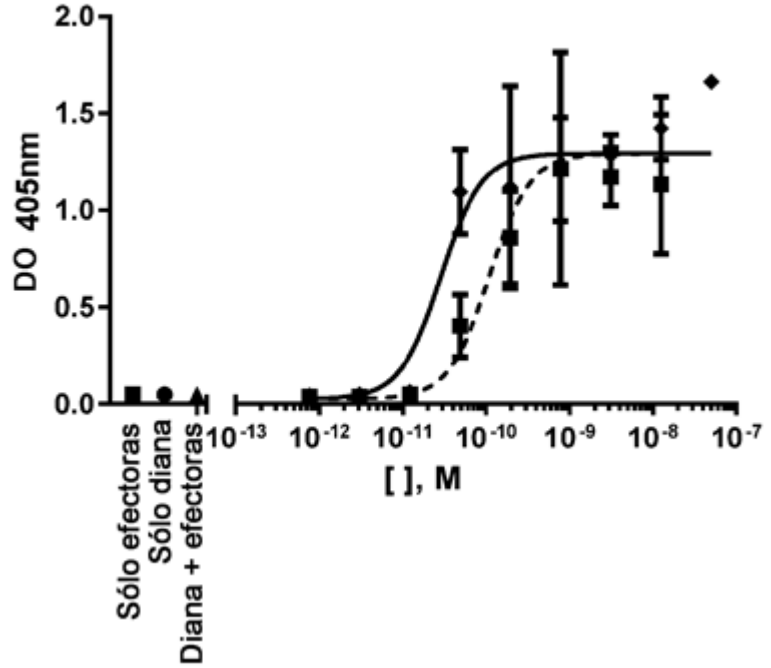


Figura 20:

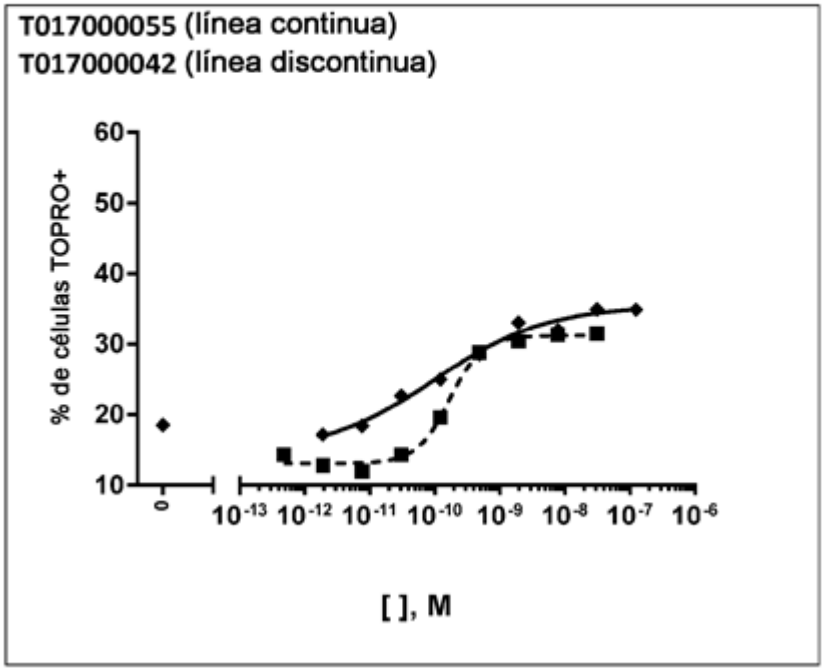


Figura 20 cont.:

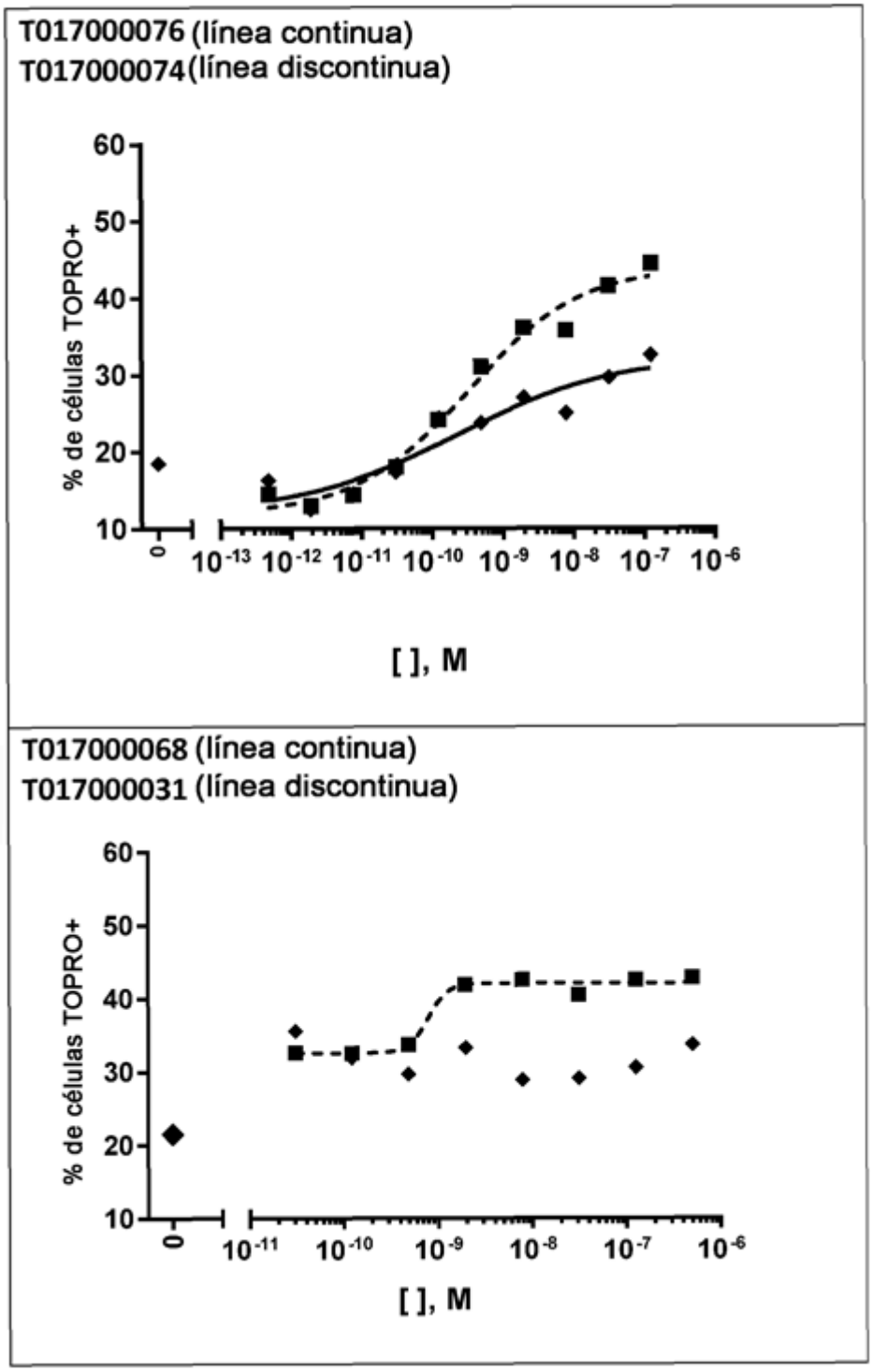


Figura 21:

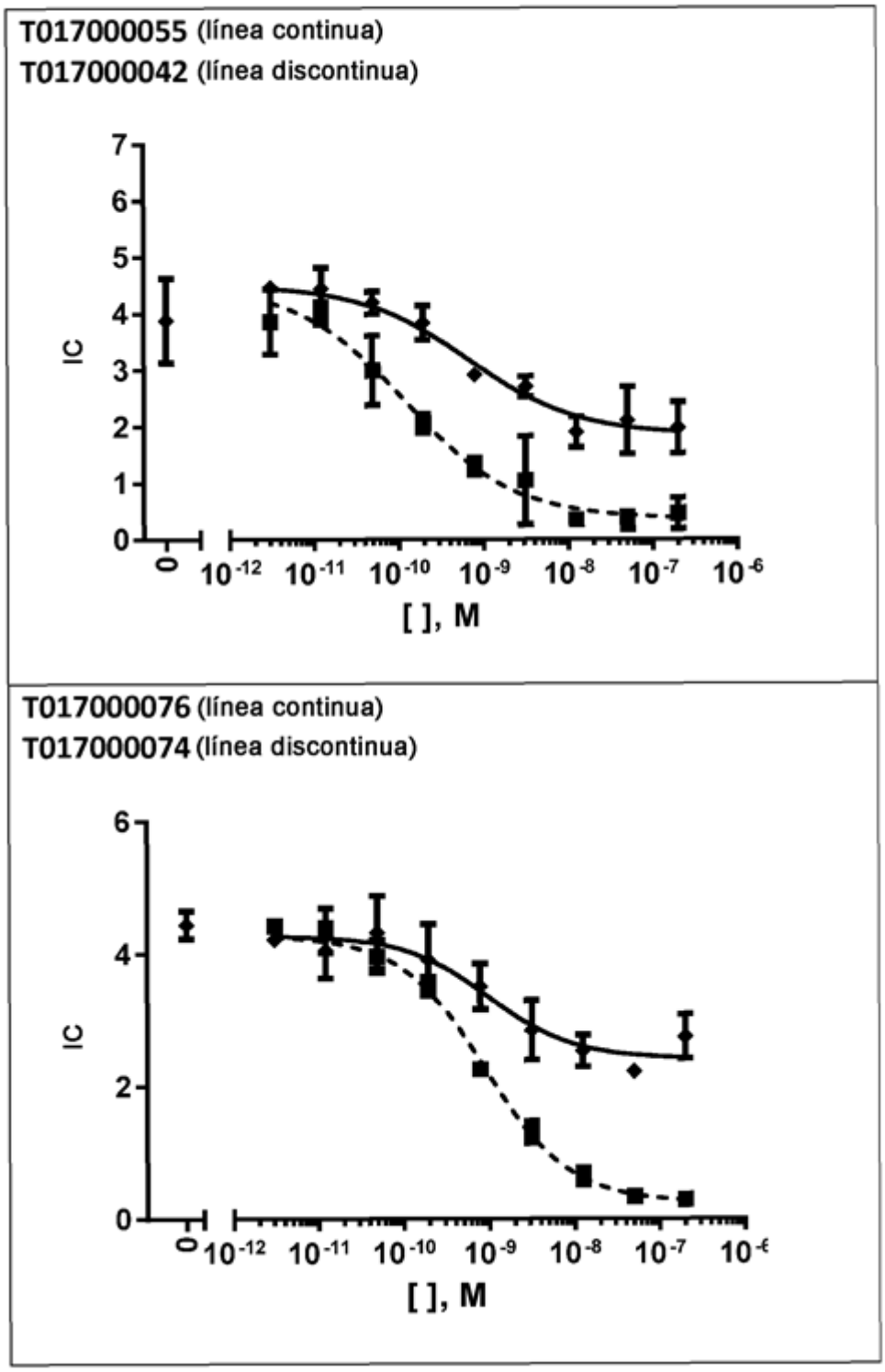

T017000055 (línea continua)
T017000042 (línea discontinua)
IC
7
6
5
4
3
2
1
0
0
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
[ ], M
T017000076 (línea continua)
T017000074 (línea discontinua)
IC
6
4
2
0
0
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
[ ], M

Figura 21 cont.:

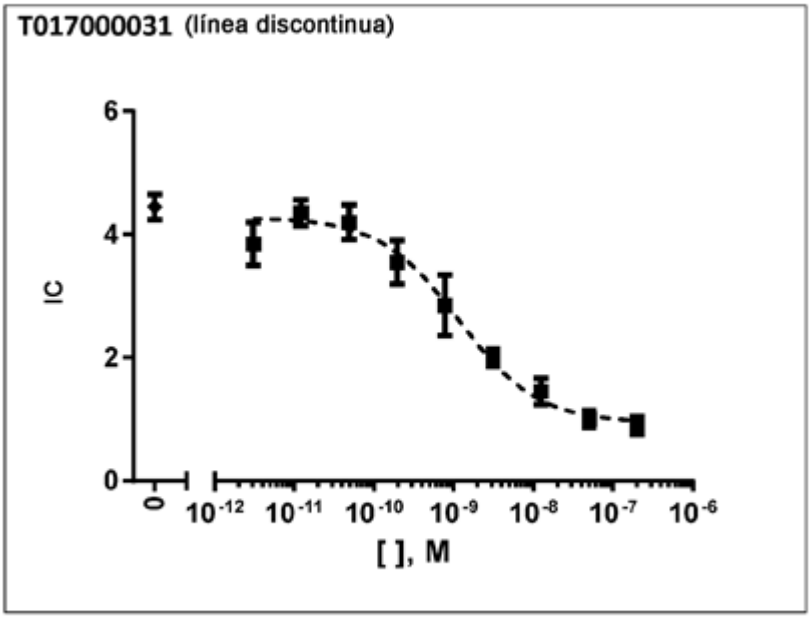


Figura 22:

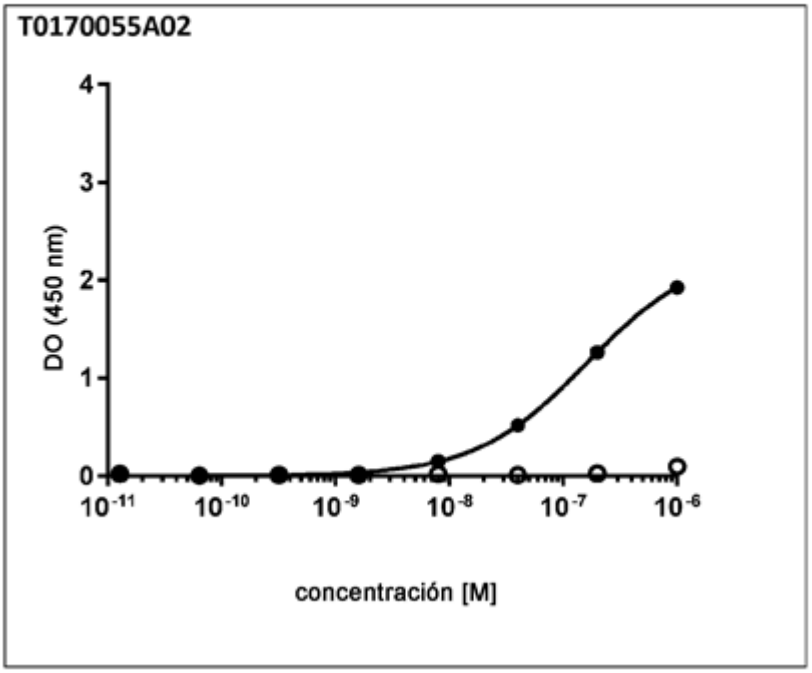


Figura 22 cont.:

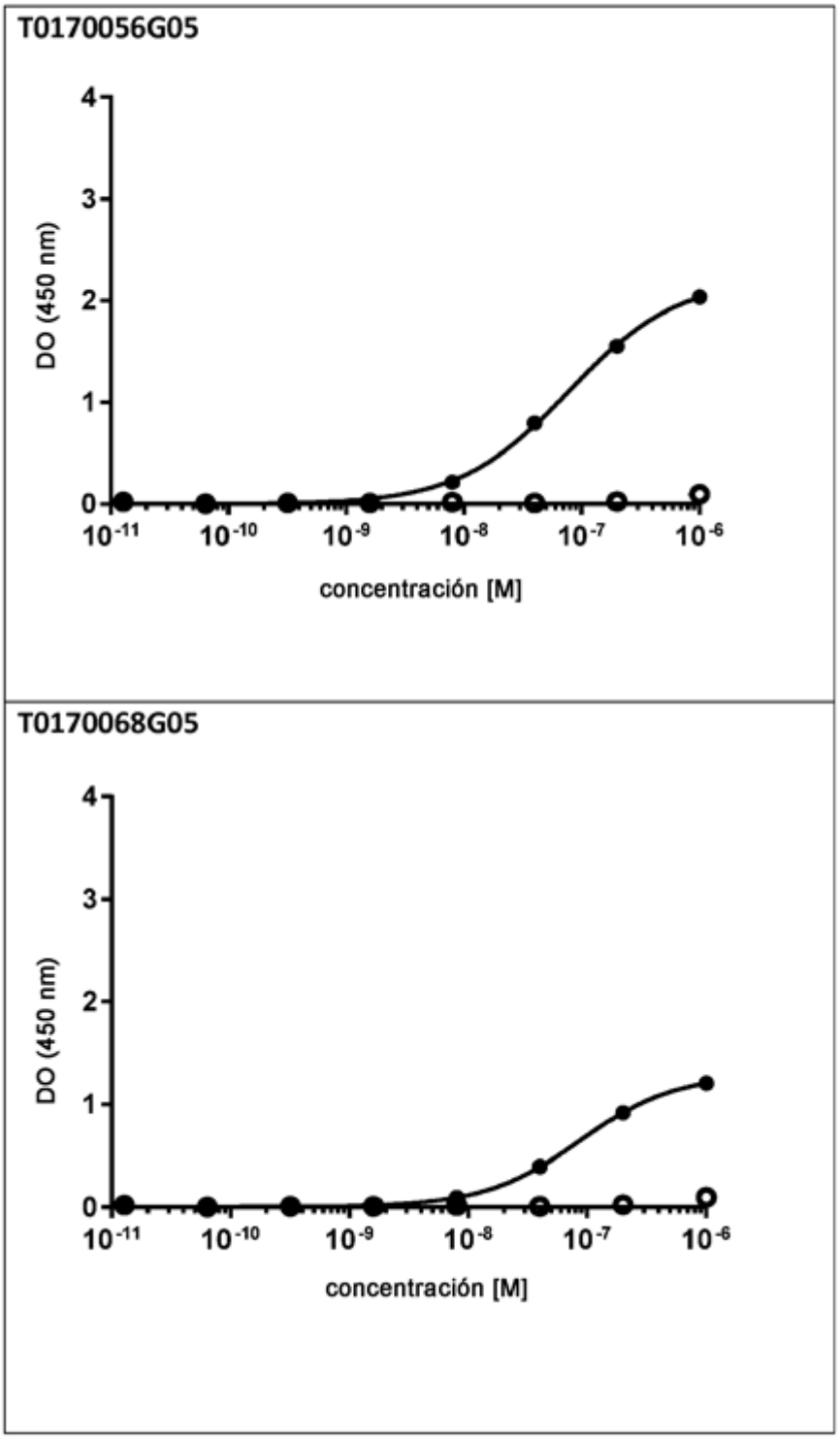


Figura 22 cont.:

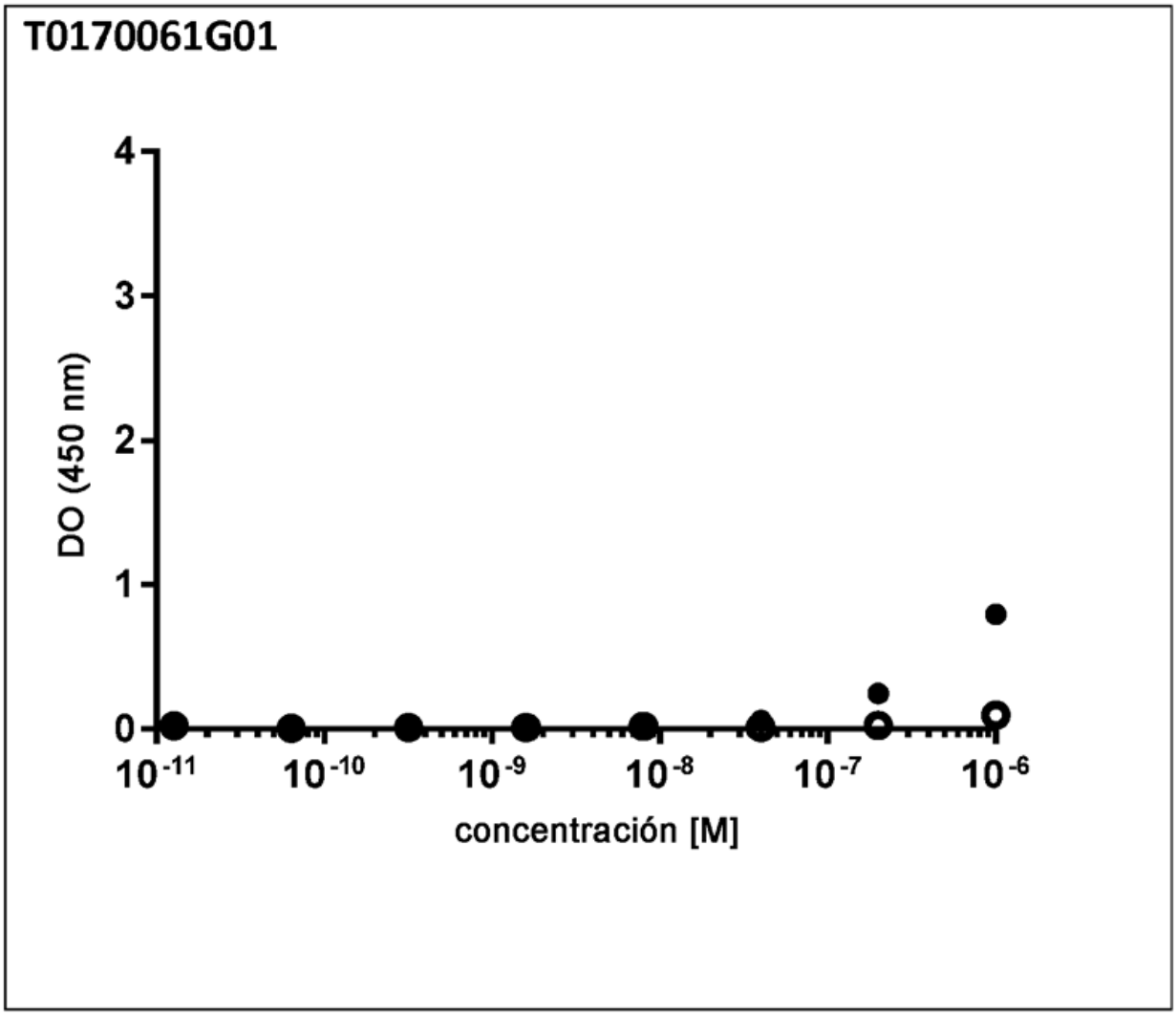
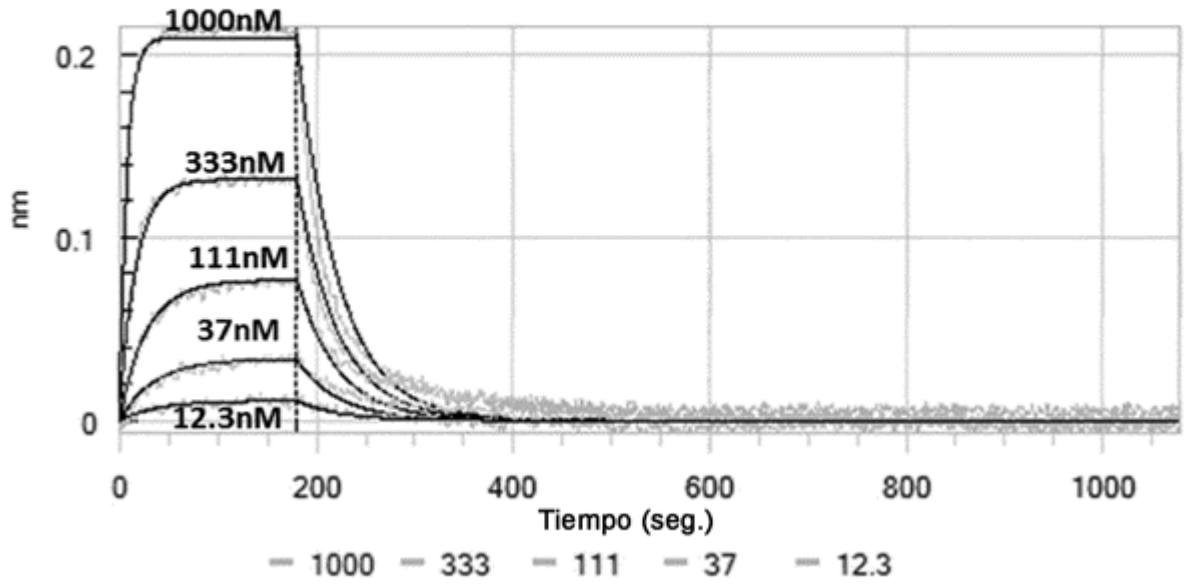


Figura 23:

A.


1000nM
333nM
111nM
37nM
12.3nM
nm
0.2
0.1
0
0
200
400
600
800
1000
Tiempo (seg.)
1000
333
111
37
12.3

B.

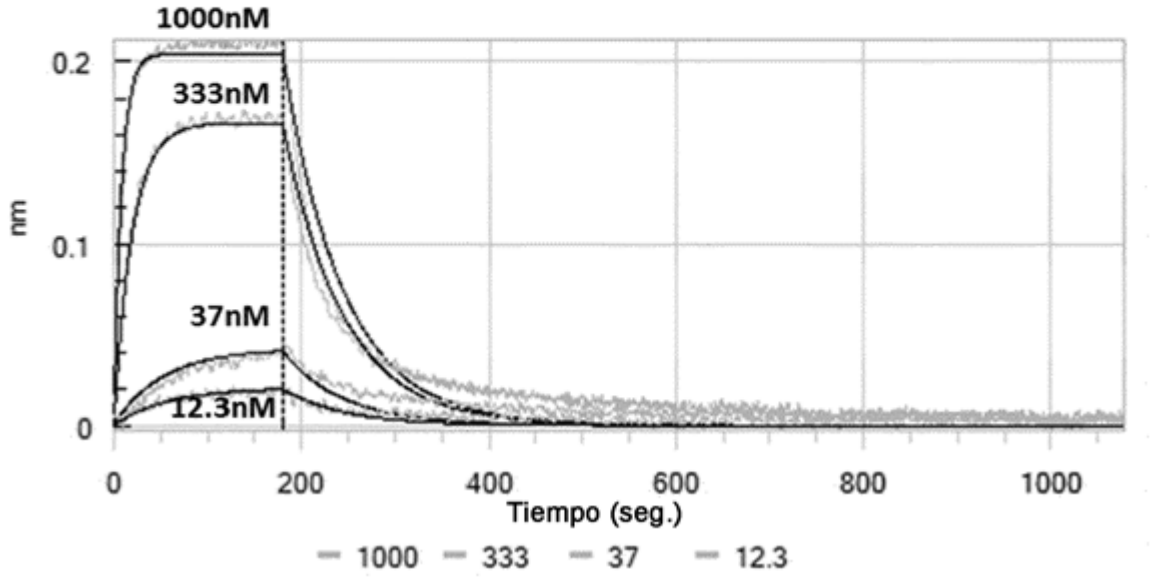
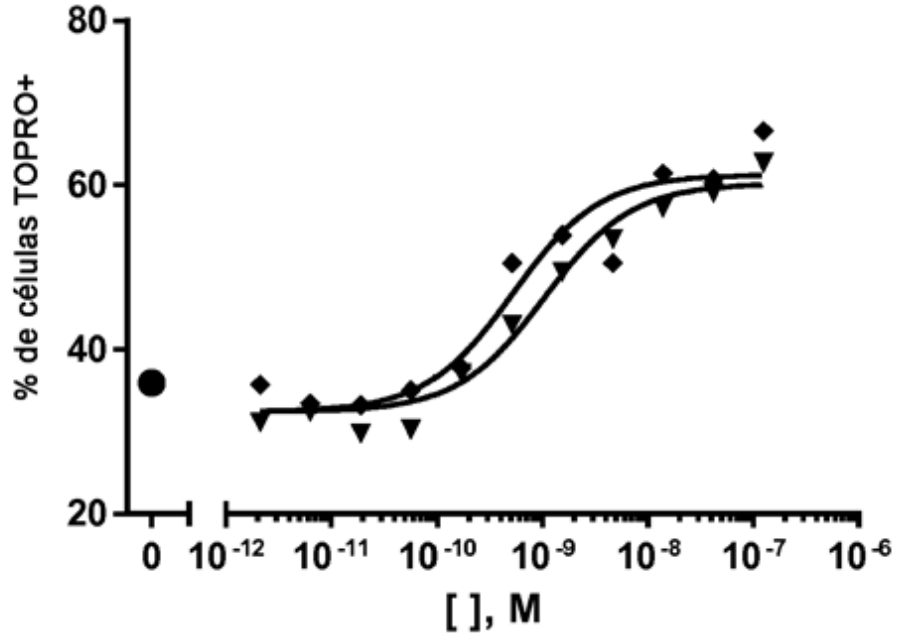

1000nM
333nM
37nM
12.3nM
nm
0.2
0.1
0
0
200
400
600
800
1000
Tiempo (seg.)
1000
333
37
12.3

Figura 24:

A. T017000076 (cuadrados) frente a T017000093 (triángulos) en ausencia de HSA



B. T017000093 en presencia de HSA 30 µM (triángulos en blanco)

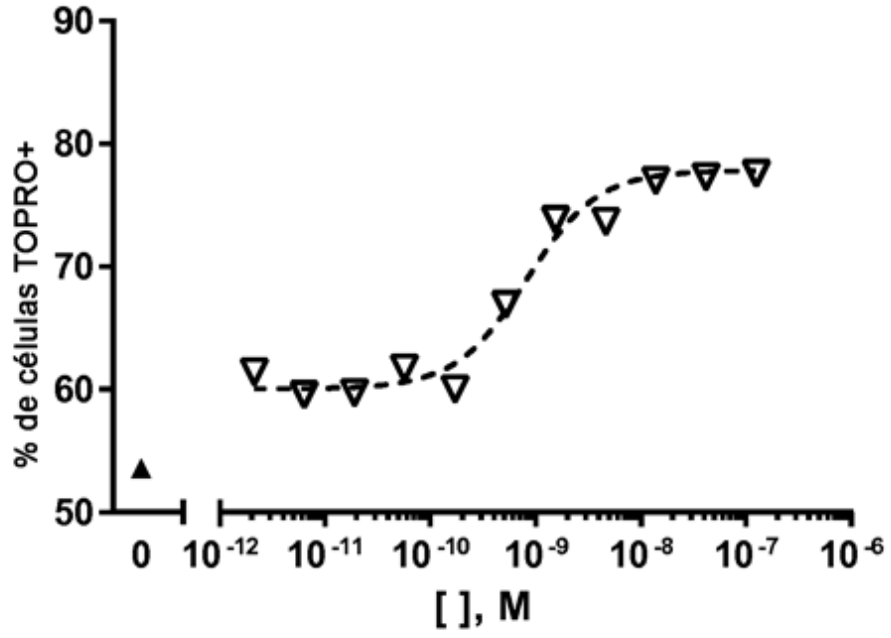


Figura 25:

T017000076 (cuadrados) frente a T017000093 en ausencia (línea continua de triángulos) y presencia de HSA 30 μM (triángulos en blanco - línea discontinua)

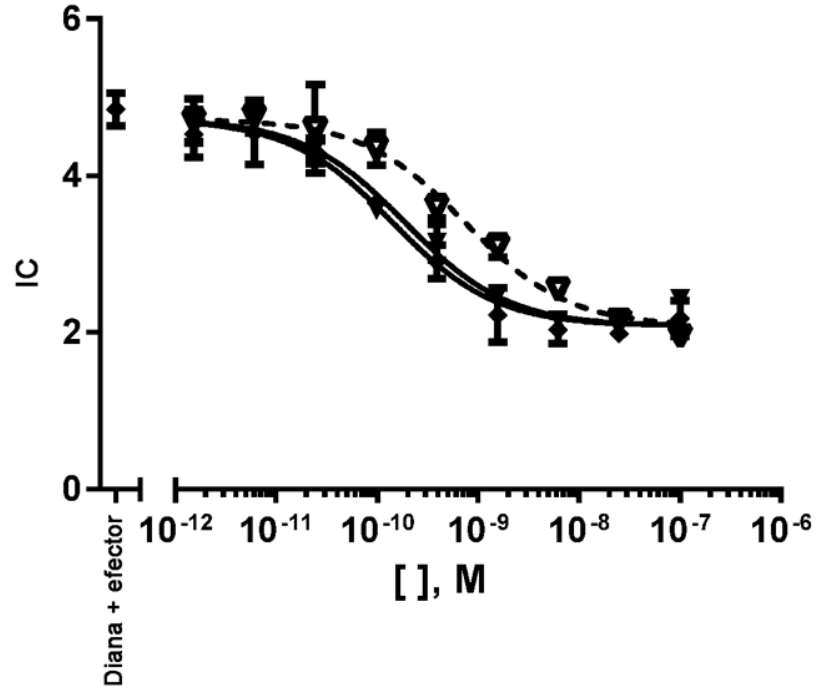


Figura 26:

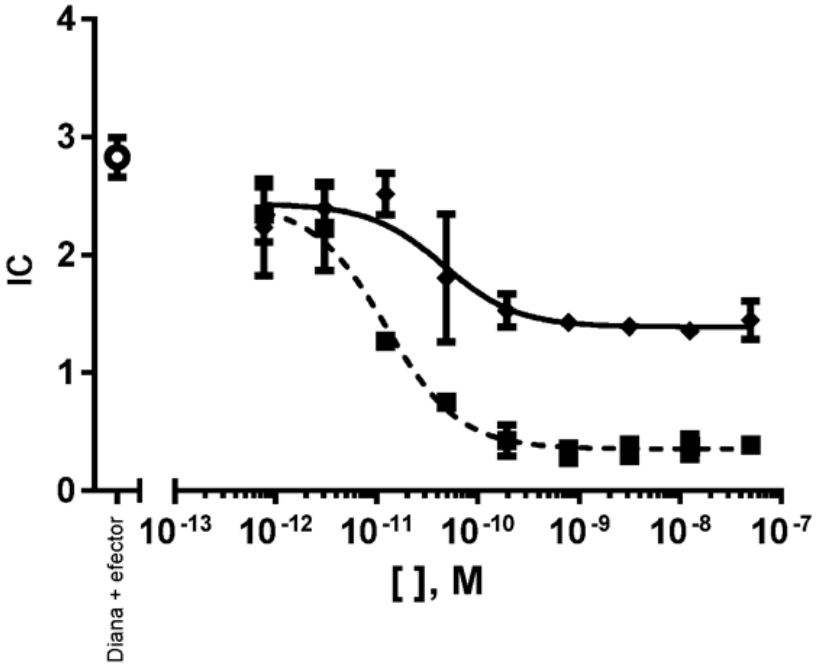


Figura 27:

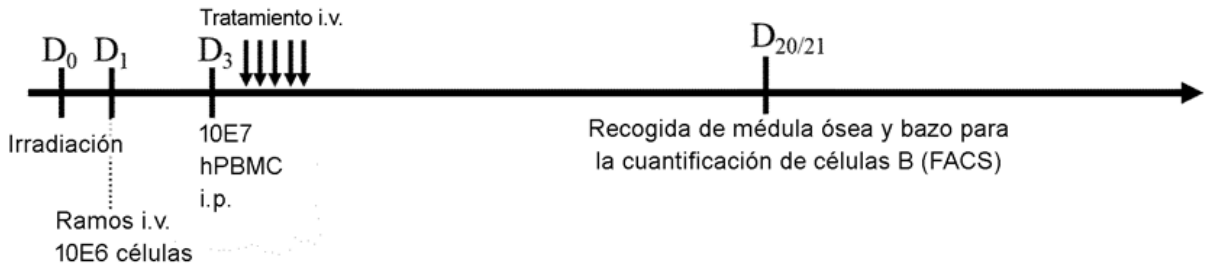


Figura 28A:

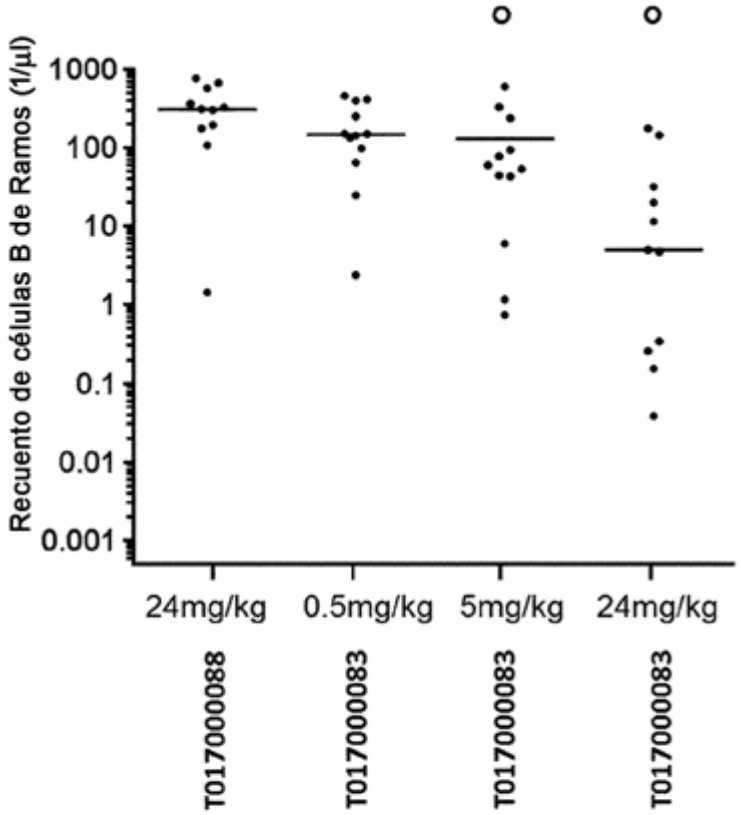


Figura 28B:

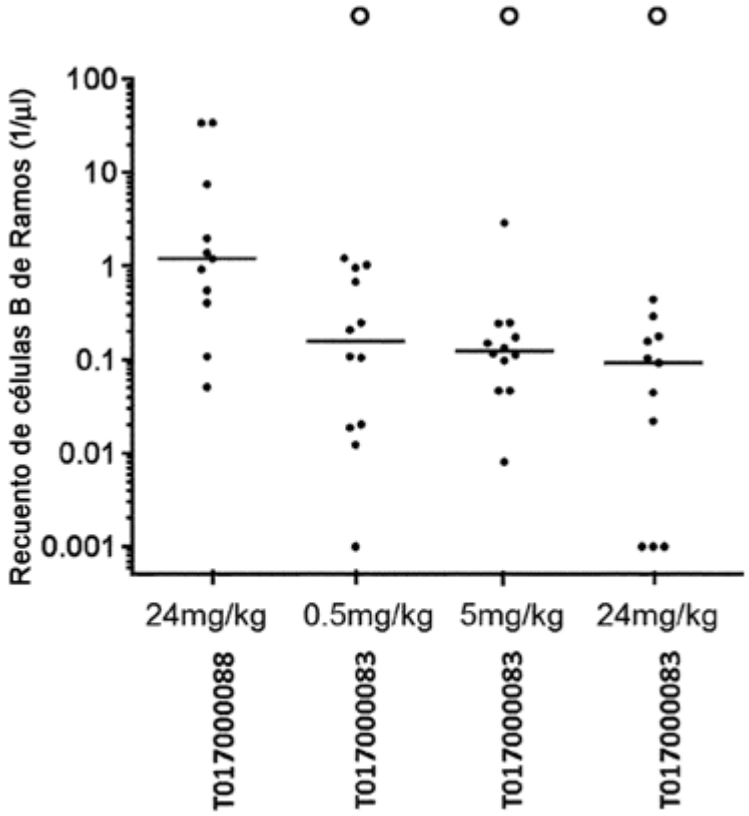


Figura 28C:

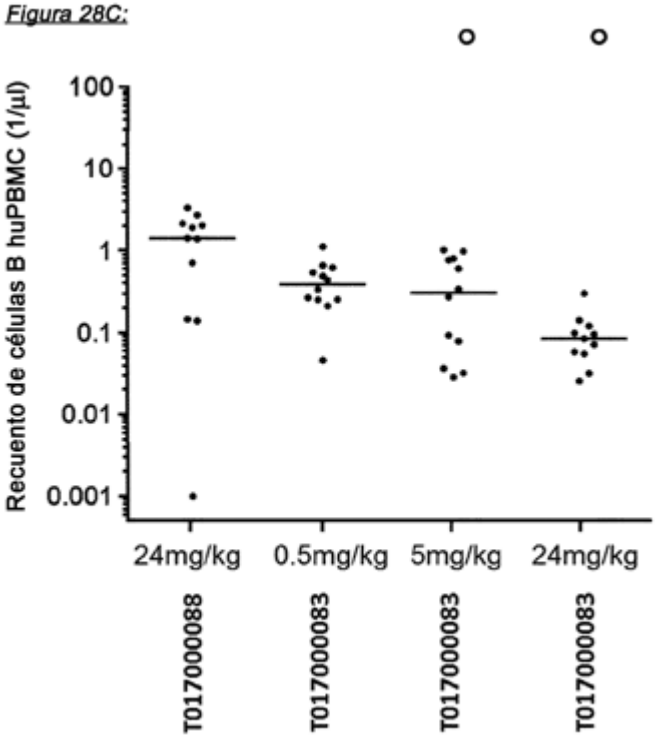


Figura 28D:

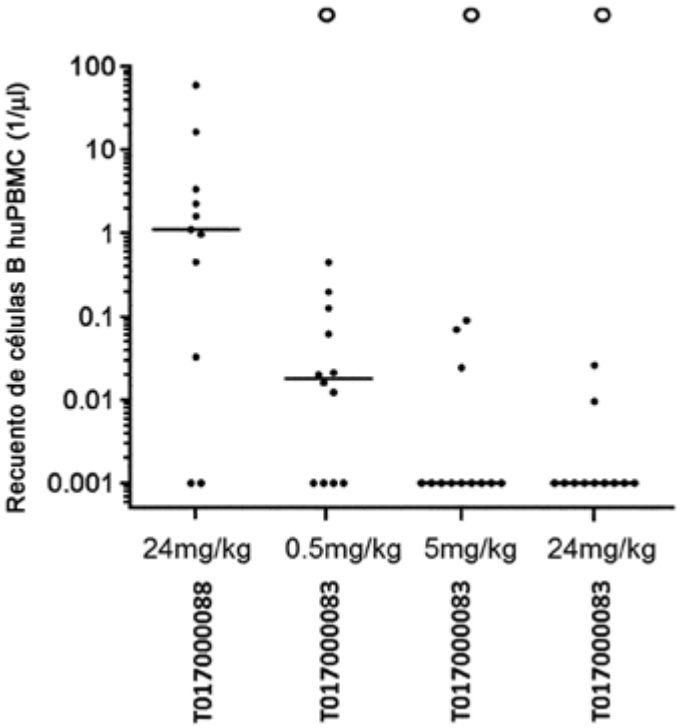


Figura 29:

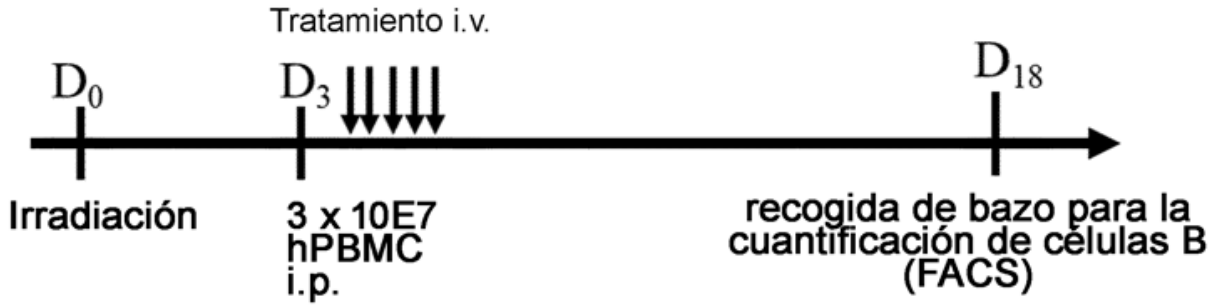


Figura 30:

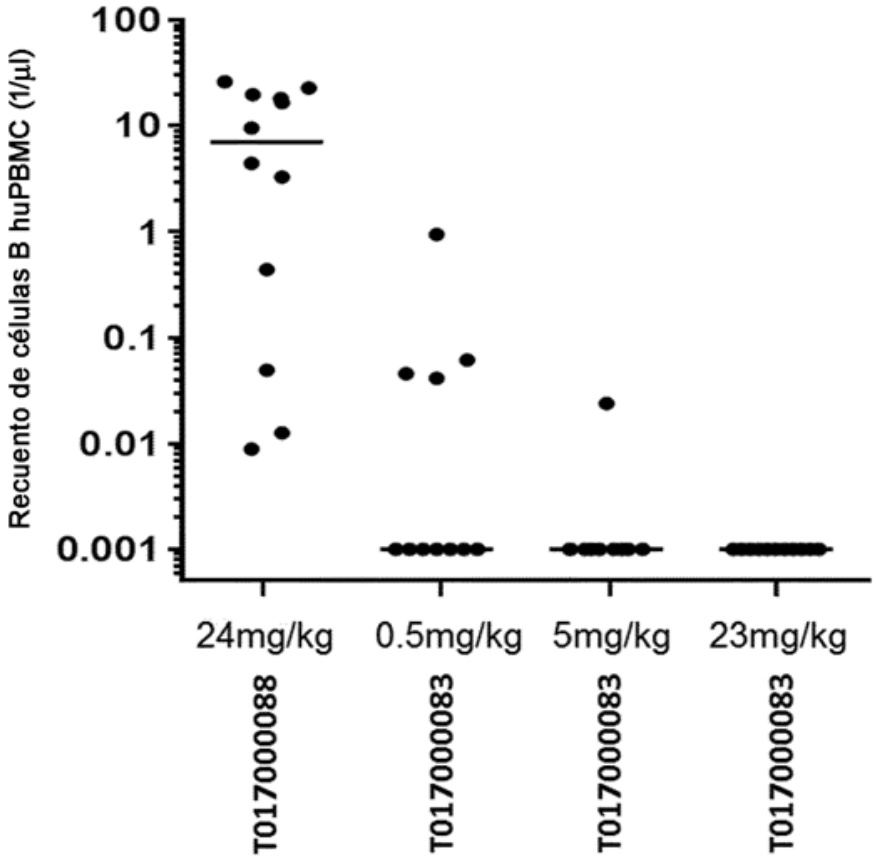
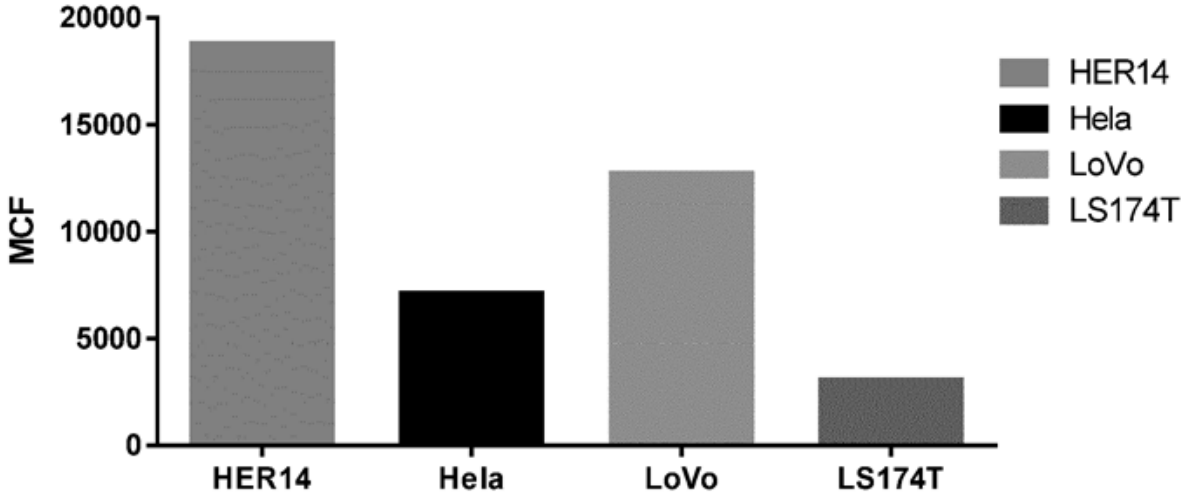


Figura 31:

A


20000
15000
10000
5000
0
MCF
HER14
Hela
LoVo
LS174T
HER14
Hela
LoVo
LS174T

B

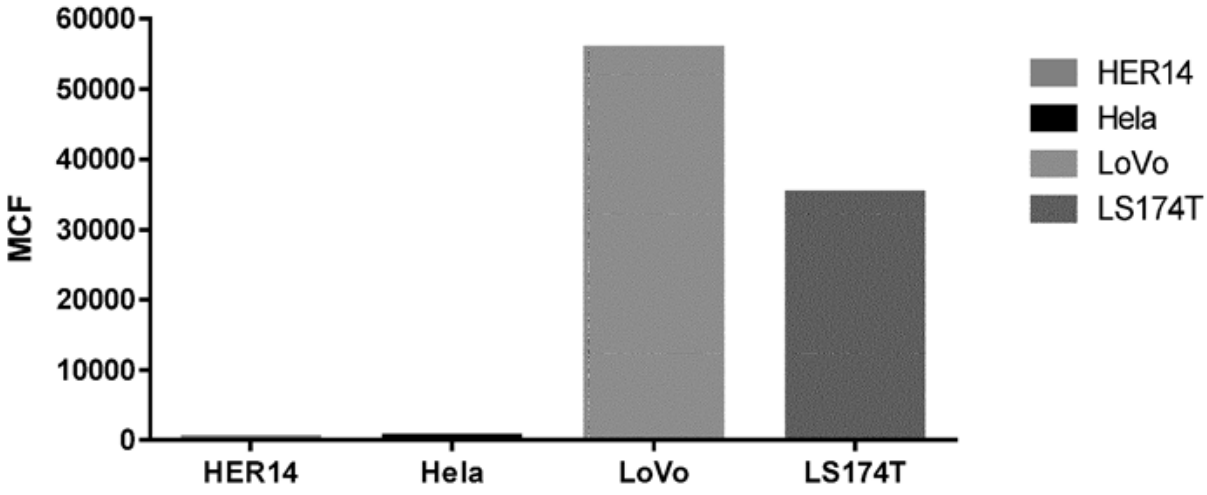

60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
MCF
HER14
Hela
LoVo
LS174T
HER14
Hela
LoVo
LS174T

Figura 32:

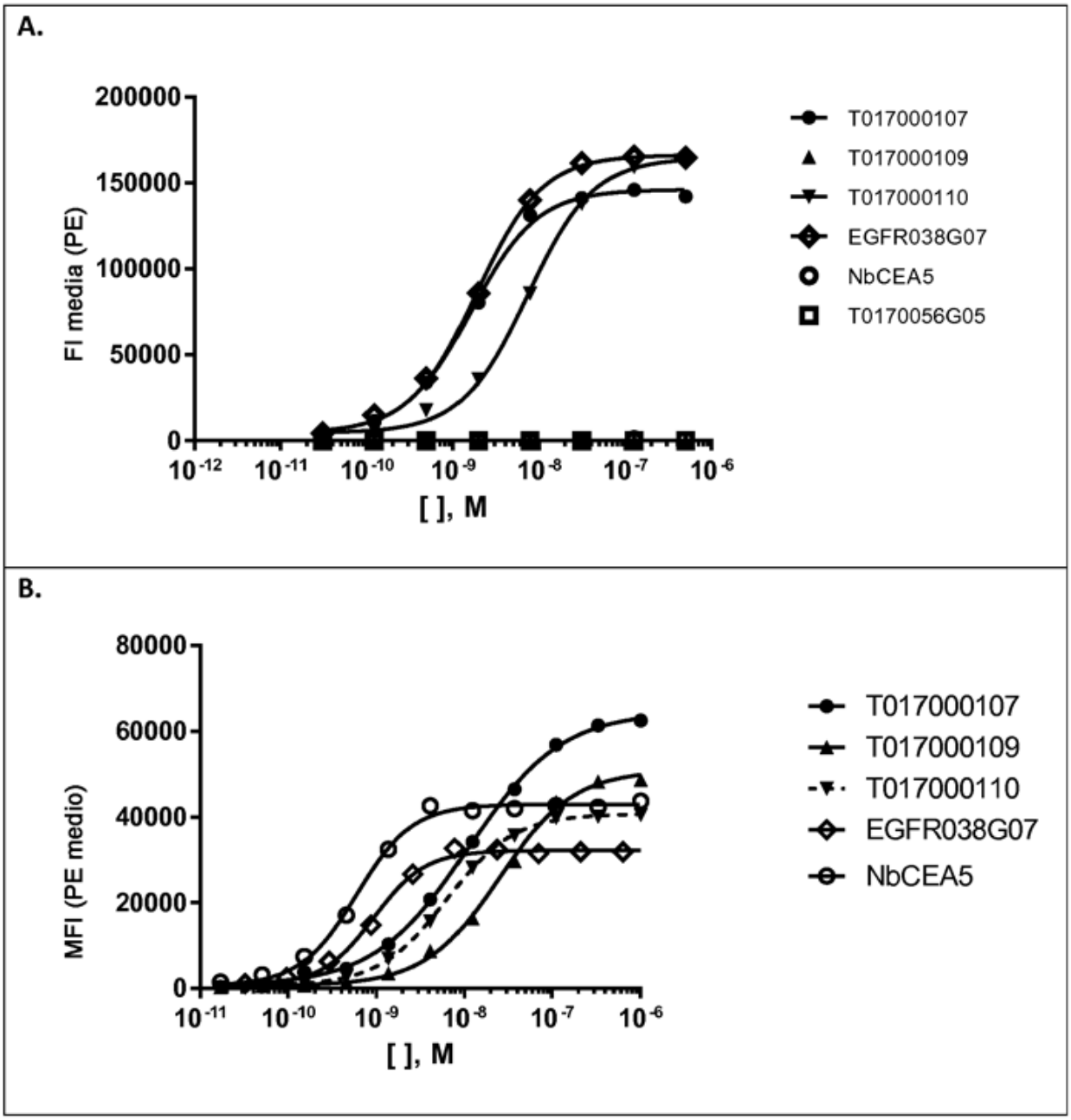

A.
200000
150000
100000
50000
0
FI media (PE)
10-12
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
[ ], M
T017000107
T017000109
T017000110
EGFR038G07
NbCEA5
T0170056G05
B.
80000
60000
40000
20000
0
MFI (PE medio)
10-11
10-10
10-9
10-8
10-7
10-6
[ ], M
T017000107
T017000109
T017000110
EGFR038G07
NbCEA5

Figura 32 cont.:

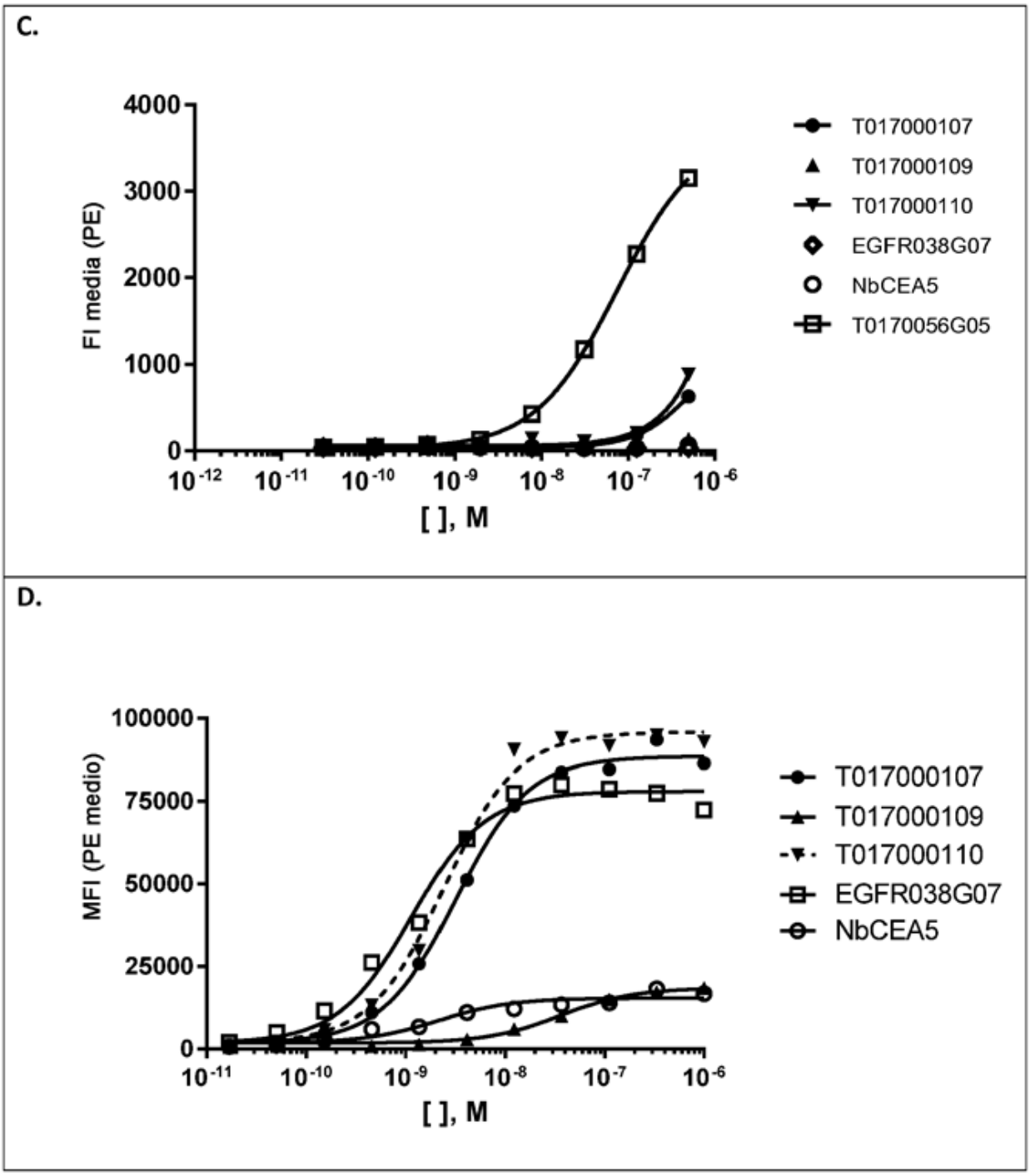


Figura 33:

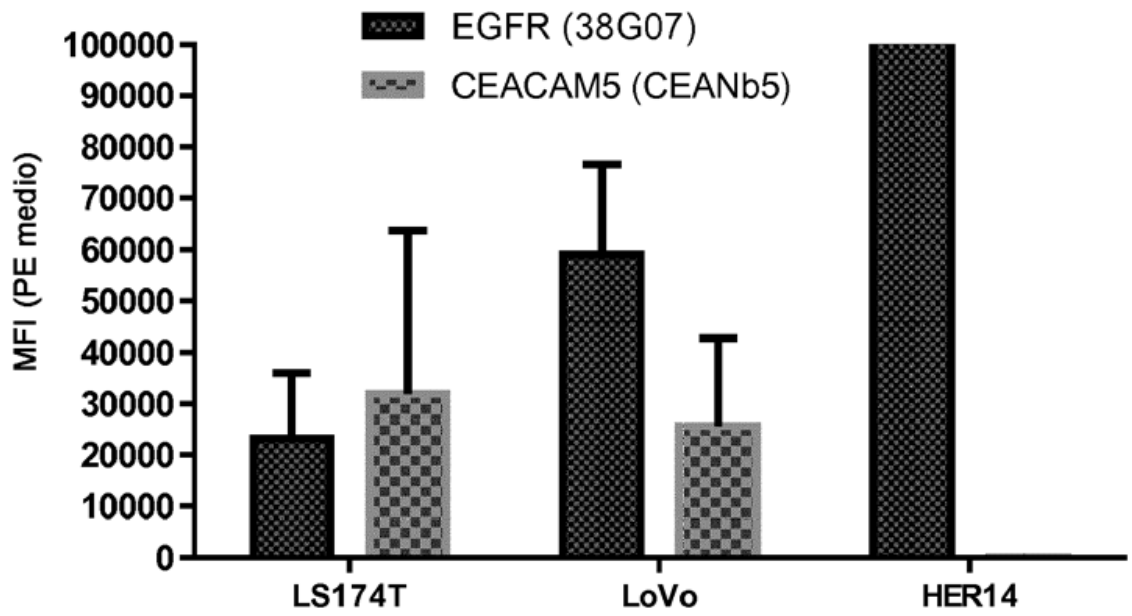

EGFR (38G07)
CEACAM5 (CEANb5)
MFI (PE medio)
100000
90000
80000
70000
60000
50000
40000
30000
20000
10000
0
LS174T
LoVo
HER14

Figura 34:

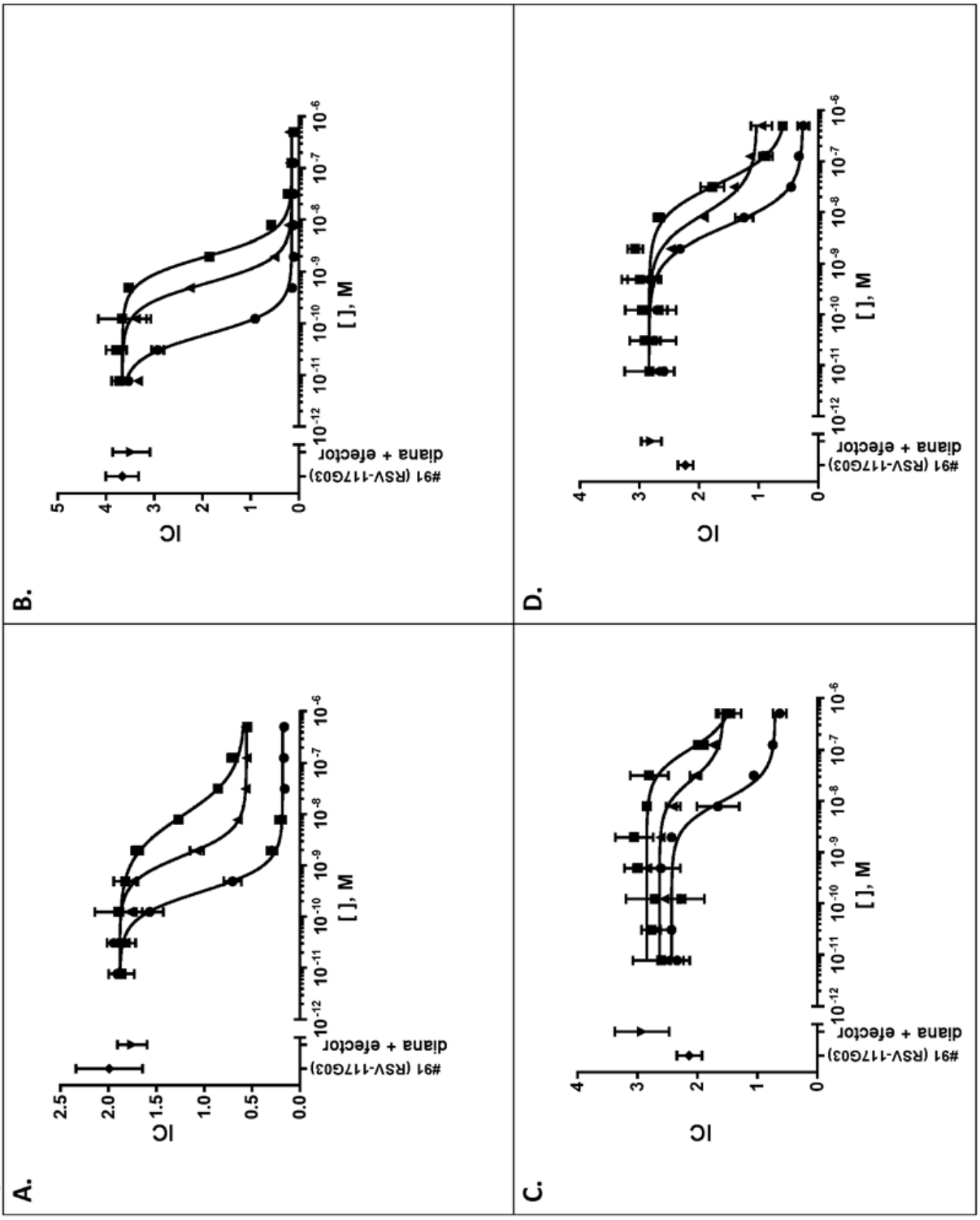


Figura 34 cont.:

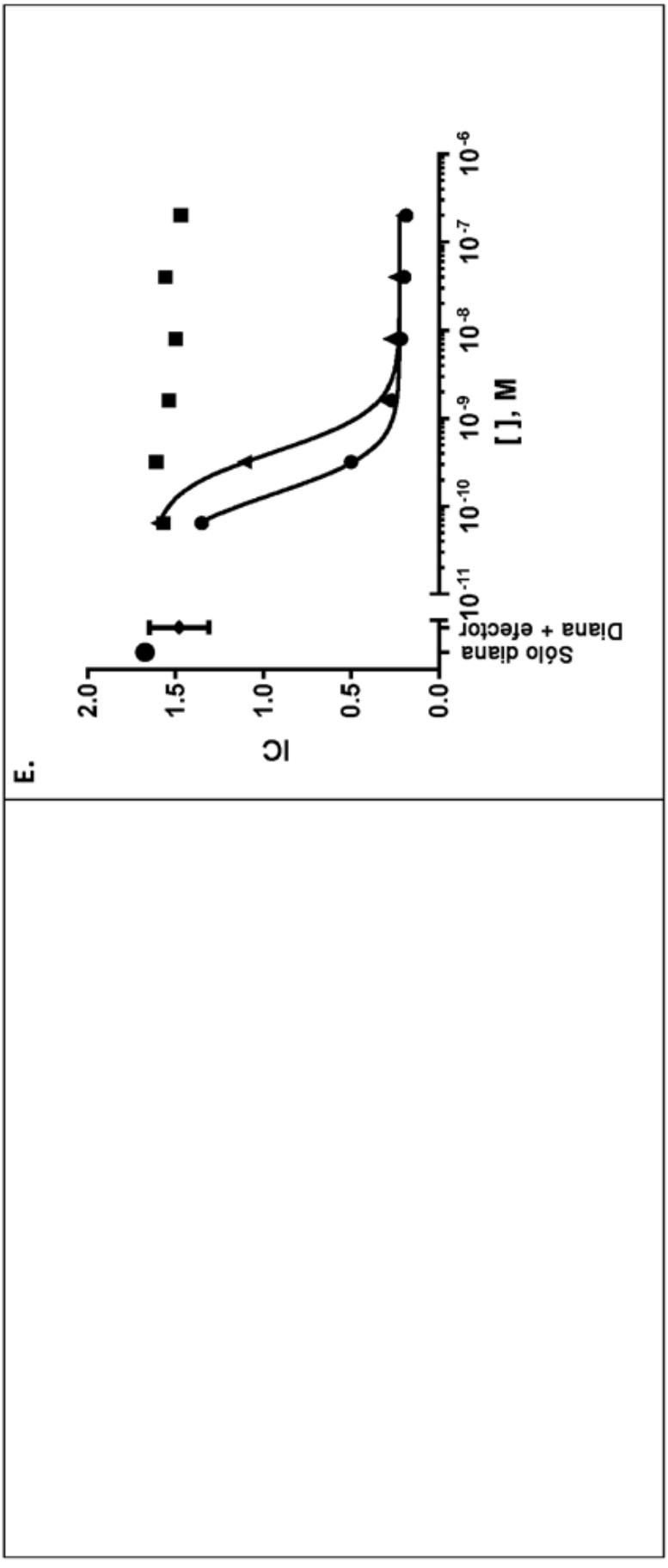
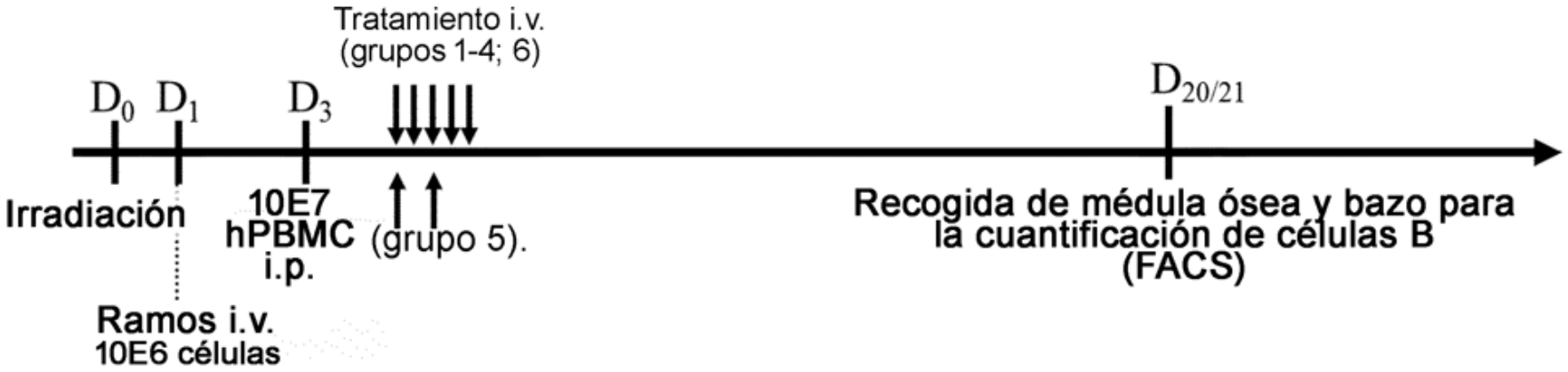


Figura 35:



(1) Irr-TCR (T017000088; Q1Dx5; 23,8 mg/kg; n=12)
(2) Irr-TCR-Alb (T017000106; Q1Dx5; 35,4 mg/kg; n=12)
(3) CD20-TCR (T017000083; Q1Dx5; 23,2 mg/kg; n=12)
(4) CD20-TCR-Alb (T017000104; Q1Dx5; 34,9 mg/kg; n=12)
(5) CD20-TCR-Alb (T017000104; D3+D5; 34,9 mg/kg; n=12)
(6) CD20-TCR (T017000105; Q1Dx5; 23,2 mg/kg; n=11)

Grupos 3, 4, 5: elemento estructural 55A02
Grupo 6: elemento estructural 56G05

ES 2 754 427 T3

Figura 36A:

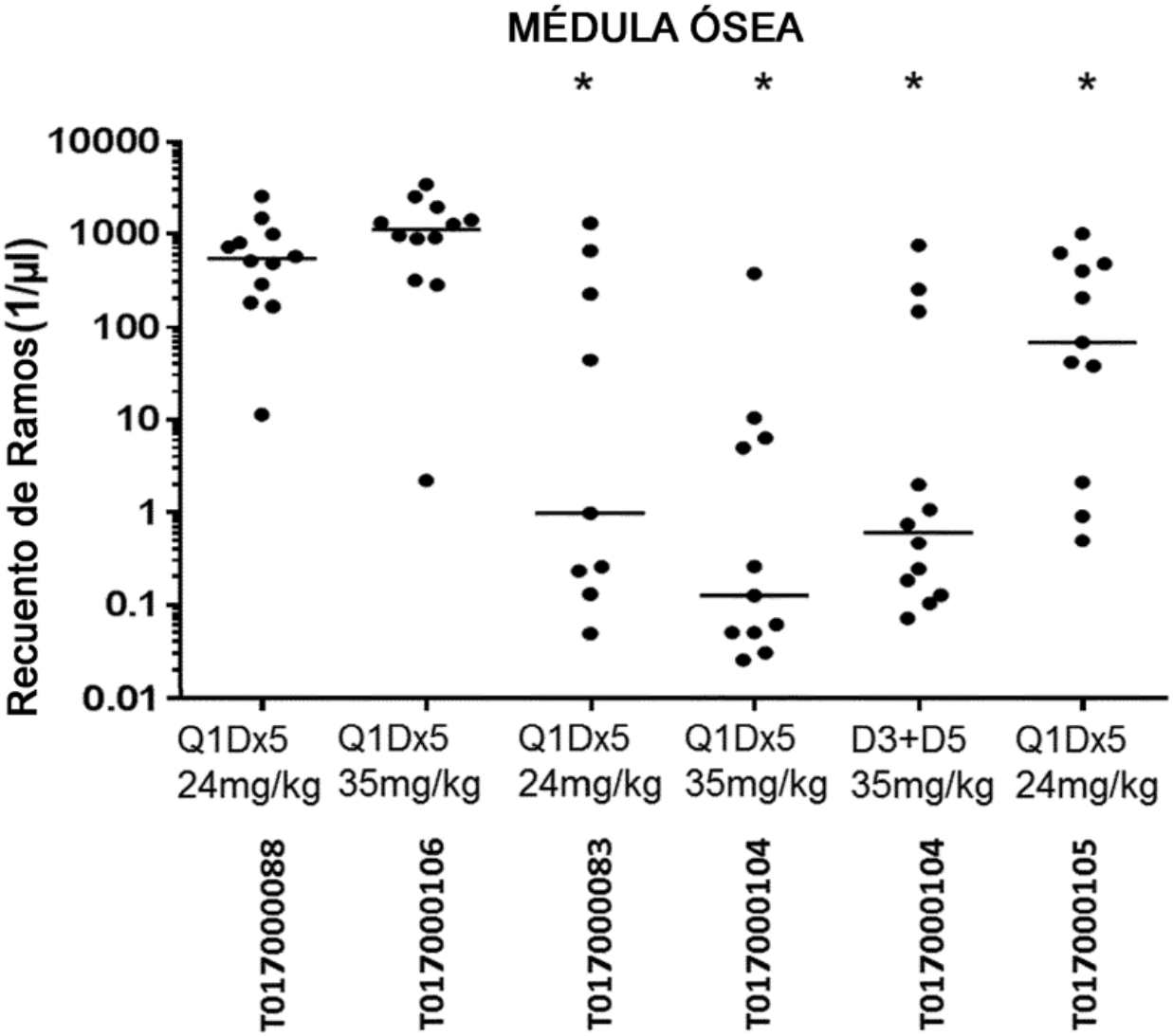

MÉDULA ÓSEA
Recuento de Ramos (1/µl)
10000
1000
100
10
1
0.1
0.01
*
*
*
*
Q1Dx5 24mg/kg
Q1Dx5 35mg/kg
Q1Dx5 24mg/kg
Q1Dx5 35mg/kg
D3+D5 35mg/kg
Q1Dx5 24mg/kg
T017000088
T017000106
T017000083
T017000104
T017000104
T017000105

Figura 36B:

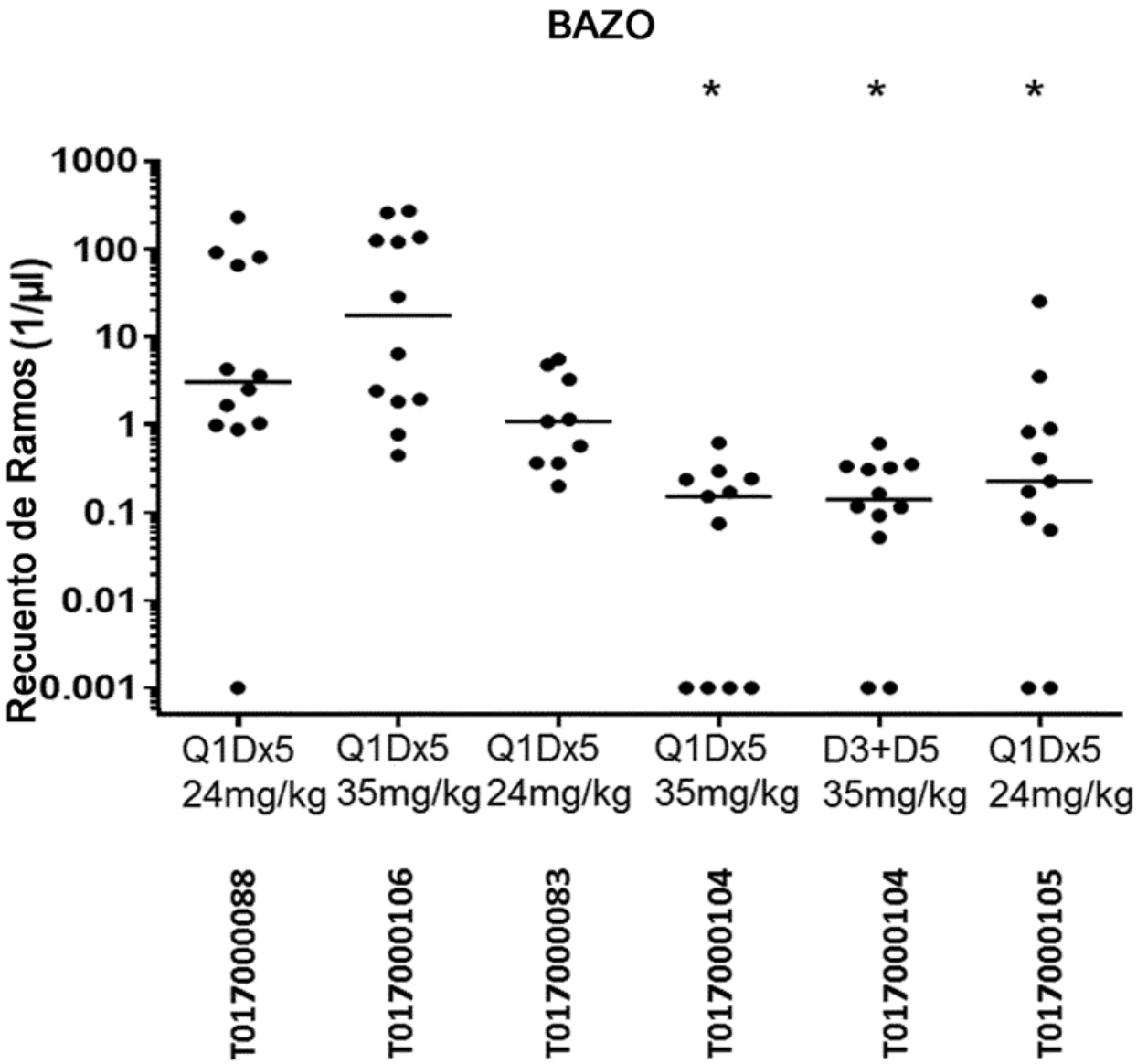

BAZO
*
*
*
1000
100
10
1
0.1
0.01
0.001
Recuento de Ramos (1/µl)
Q1Dx5 24mg/kg
Q1Dx5 35mg/kg
Q1Dx5 24mg/kg
Q1Dx5 35mg/kg
D3+D5 35mg/kg
Q1Dx5 24mg/kg
T0170000088
T0170000106
T0170000083
T0170000104
T0170000104
T0170000105

Figura 37A:

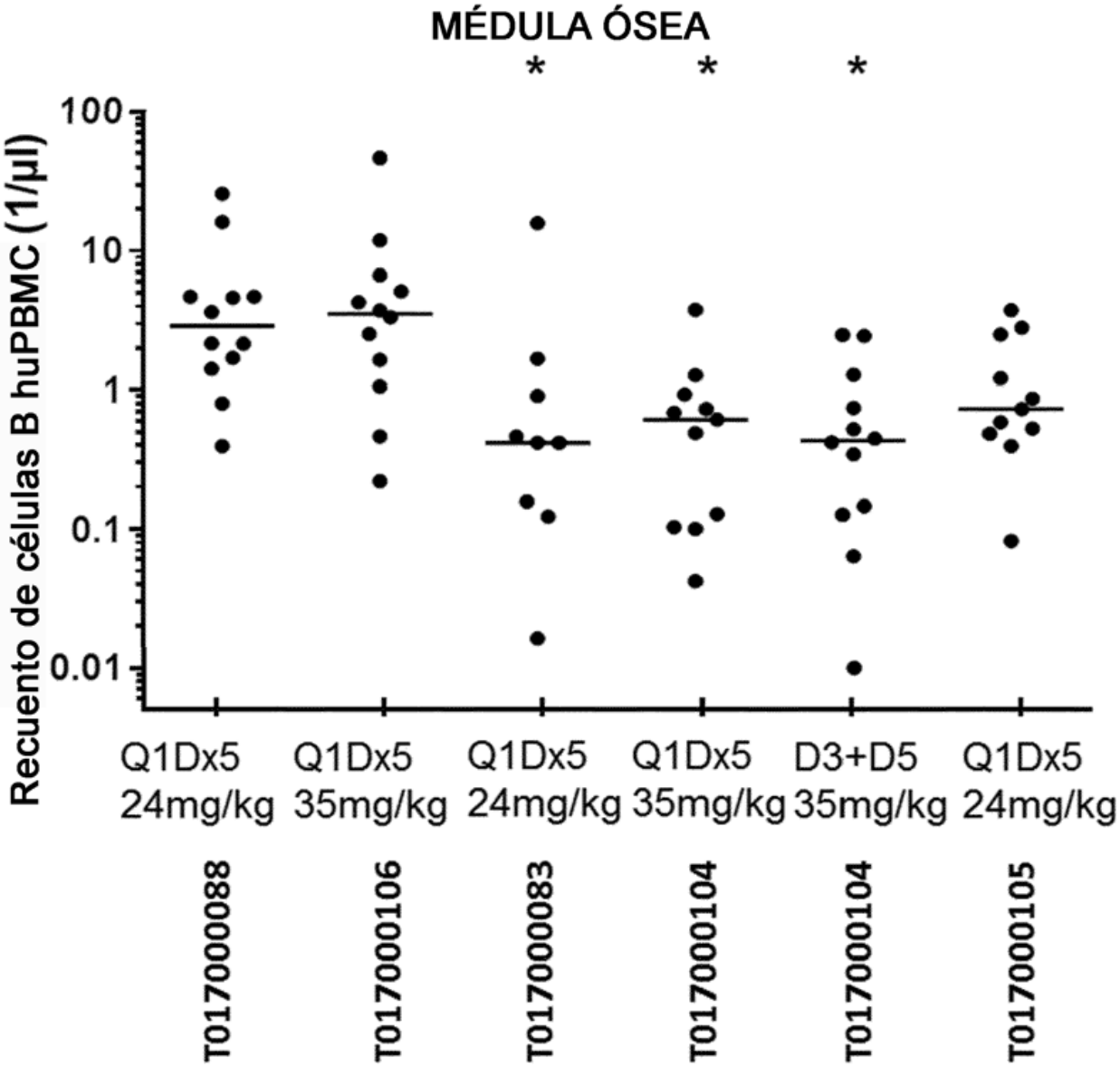

MÉDULA ÓSEA
*
*
*
Recuento de células B huPBMC (1/µl)
100
10
1
0.1
0.01
Q1Dx5 24mg/kg
Q1Dx5 35mg/kg
Q1Dx5 24mg/kg
Q1Dx5 35mg/kg
D3+D5 35mg/kg
Q1Dx5 24mg/kg
T017000088
T017000106
T017000083
T017000104
T017000104
T017000105

Figura 37B:

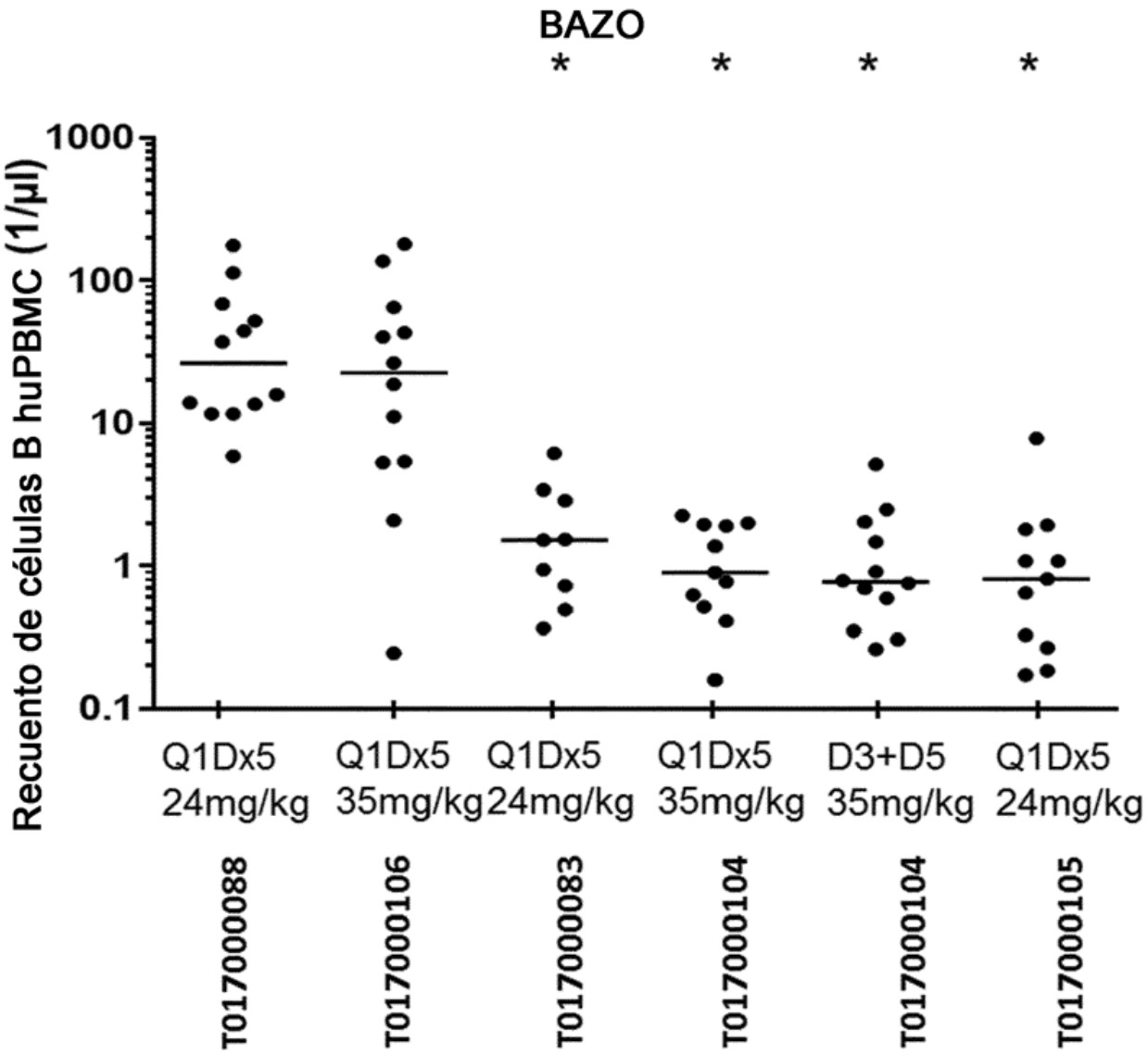

BAZO
*
*
*
*
1000
100
10
1
0.1
Recuento de células B huPBMC (1/µl)
Q1Dx5 24mg/kg
Q1Dx5 35mg/kg
Q1Dx5 24mg/kg
Q1Dx5 35mg/kg
D3+D5 35mg/kg
Q1Dx5 24mg/kg
T017000088
T017000106
T017000083
T017000104
T017000104
T017000105

Figura 38:

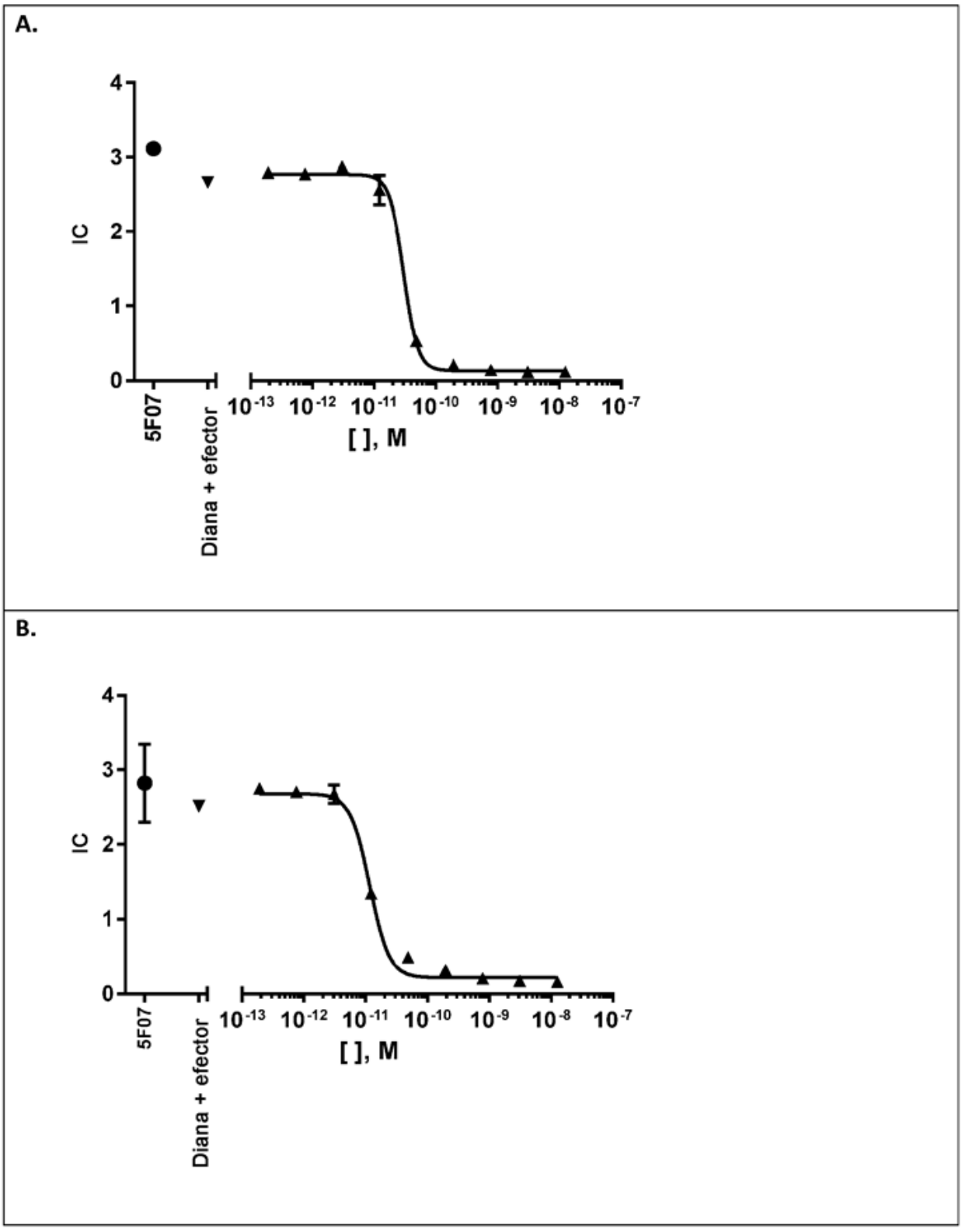

A.
IC
4
3
2
1
0
5F07
Diana + efector
10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7
[ ], M
B.
IC
4
3
2
1
0
5F07
Diana + efector
10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7
[ ], M

Figura 38 cont.:

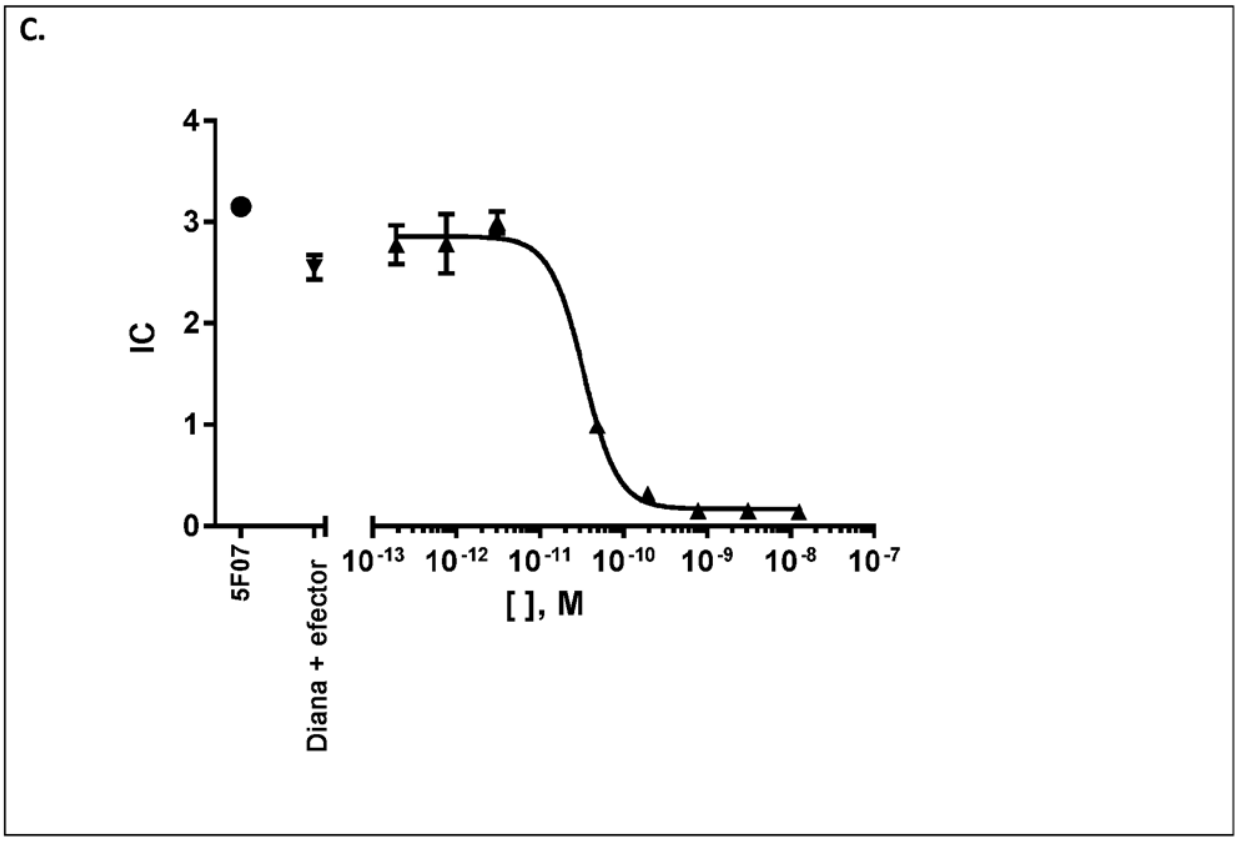


Figura 39:

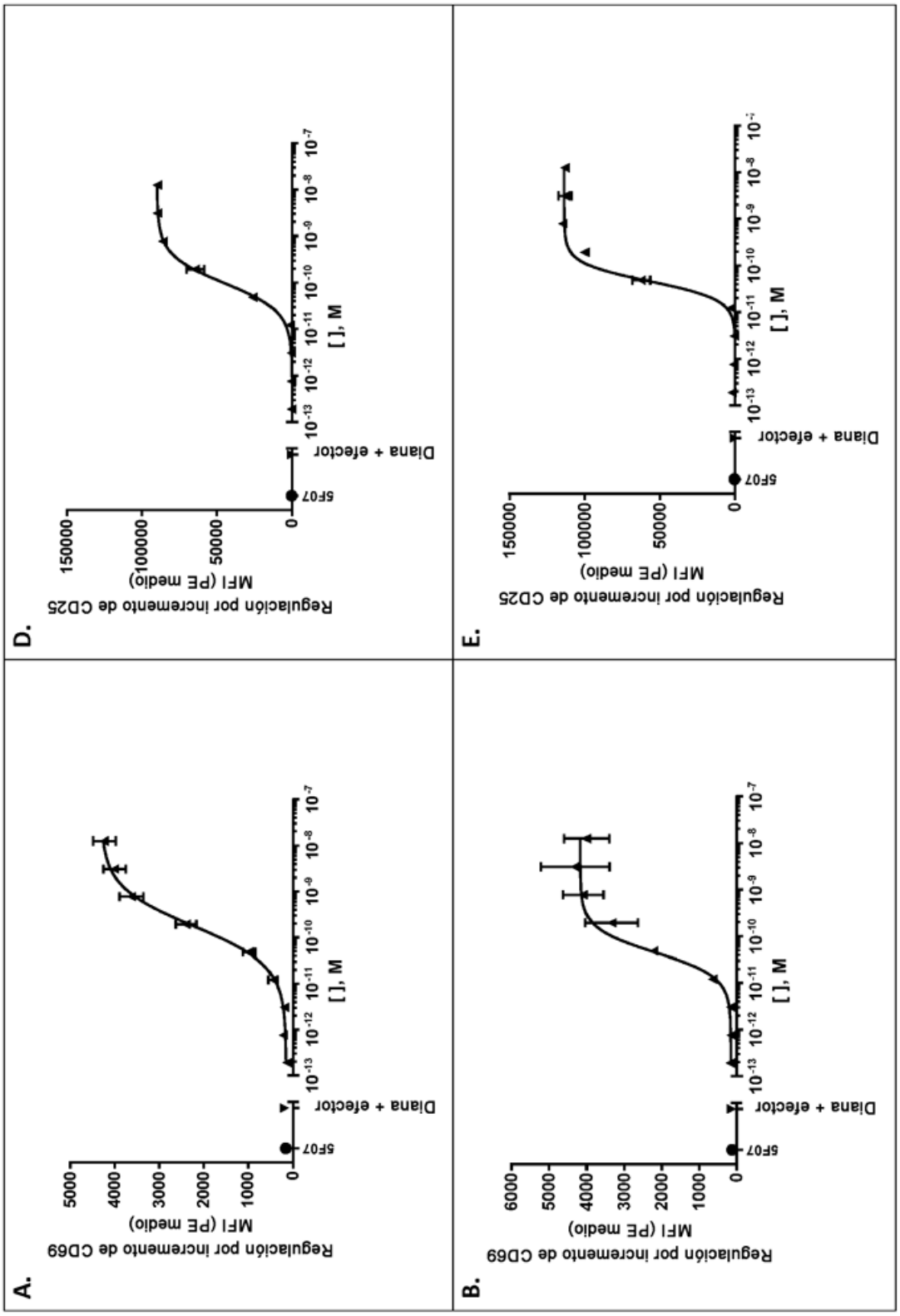

A.
Regulación por incremento de CD69
MFI (PE medio)
5000
4000
3000
2000
1000
0
5F07
Diana + efector
10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7
[ ], M
B.
Regulación por incremento de CD69
MFI (PE medio)
6000
5000
4000
3000
2000
1000
0
5F07
Diana + efector
10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7
[ ], M
D.
Regulación por incremento de CD25
MFI (PE medio)
150000
100000
50000
0
5F07
Diana + efector
10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7
[ ], M
E.
Regulación por incremento de CD25
MFI (PE medio)
150000
100000
50000
0
5F07
Diana + efector
10-13 10-12 10-11 10-10 10-9 10-8
[ ], M

Figura 39 cont.:

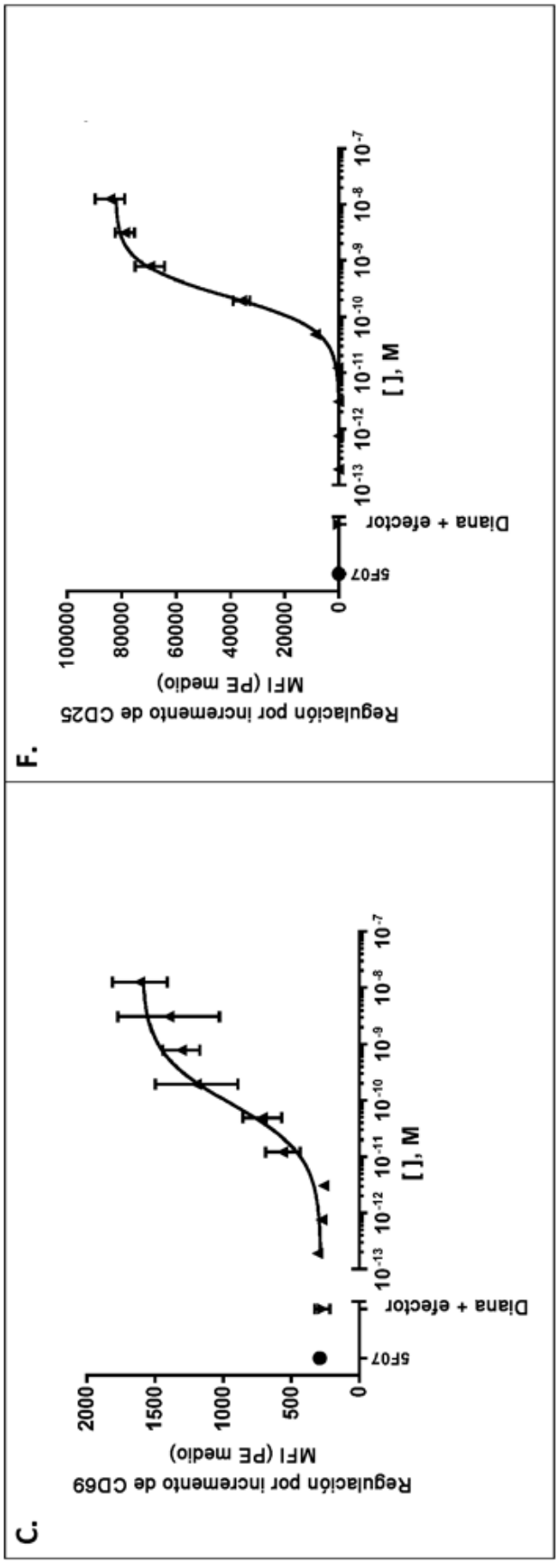


Figura 40:

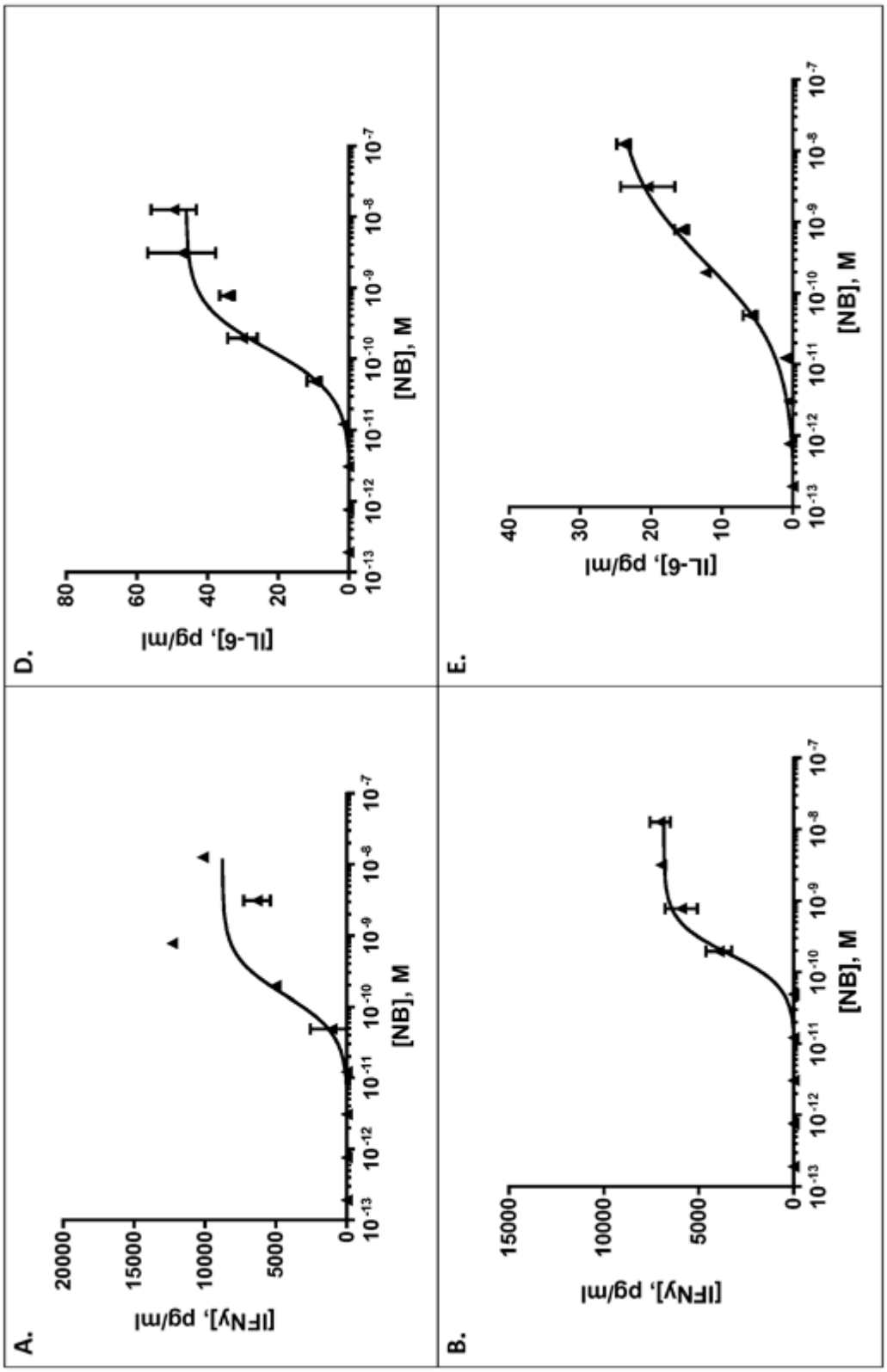

A.
[IFNγ], pg/ml
20000
15000
10000
5000
0
10^-13 10^-12 10^-11 10^-10 10^-9 10^-8 10^-7
[NB], M
D.
[IL-6], pg/ml
80
60
40
20
0
10^-13 10^-12 10^-11 10^-10 10^-9 10^-8 10^-7
[NB], M
B.
[IFNγ], pg/ml
15000
10000
5000
0
10^-13 10^-12 10^-11 10^-10 10^-9 10^-8 10^-7
[NB], M
E.
[IL-6], pg/ml
40
30
20
10
0
10^-13 10^-12 10^-11 10^-10 10^-9 10^-8 10^-7
[NB], M

Figura 40 cont.:

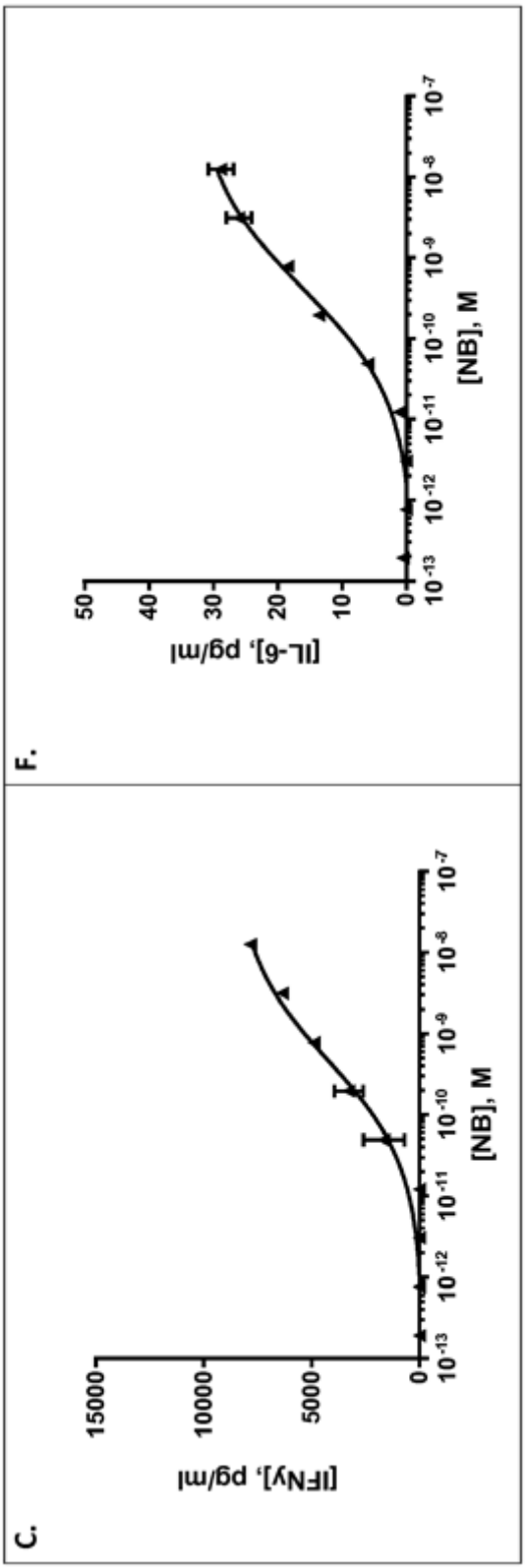


Figura 41:

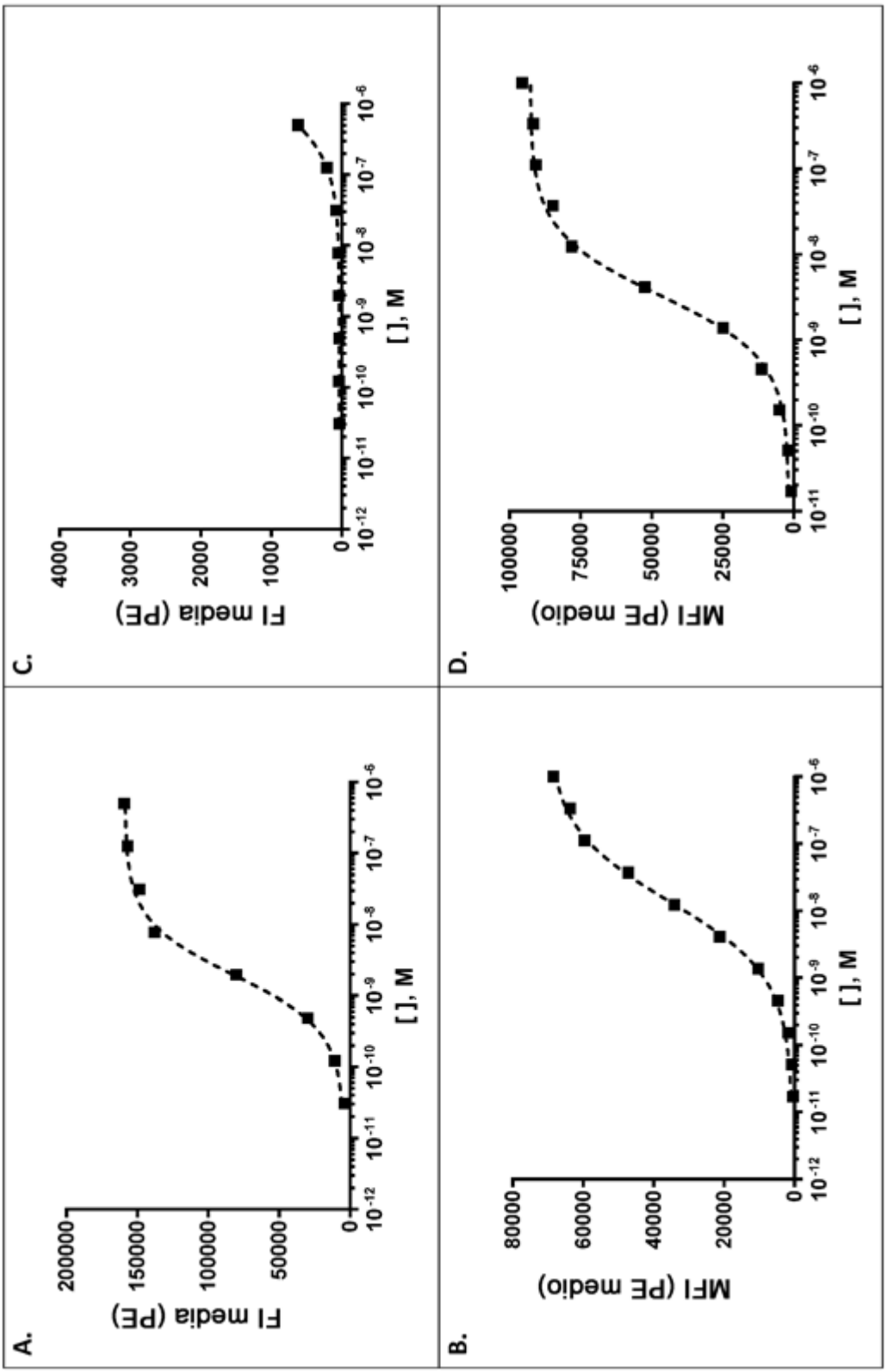
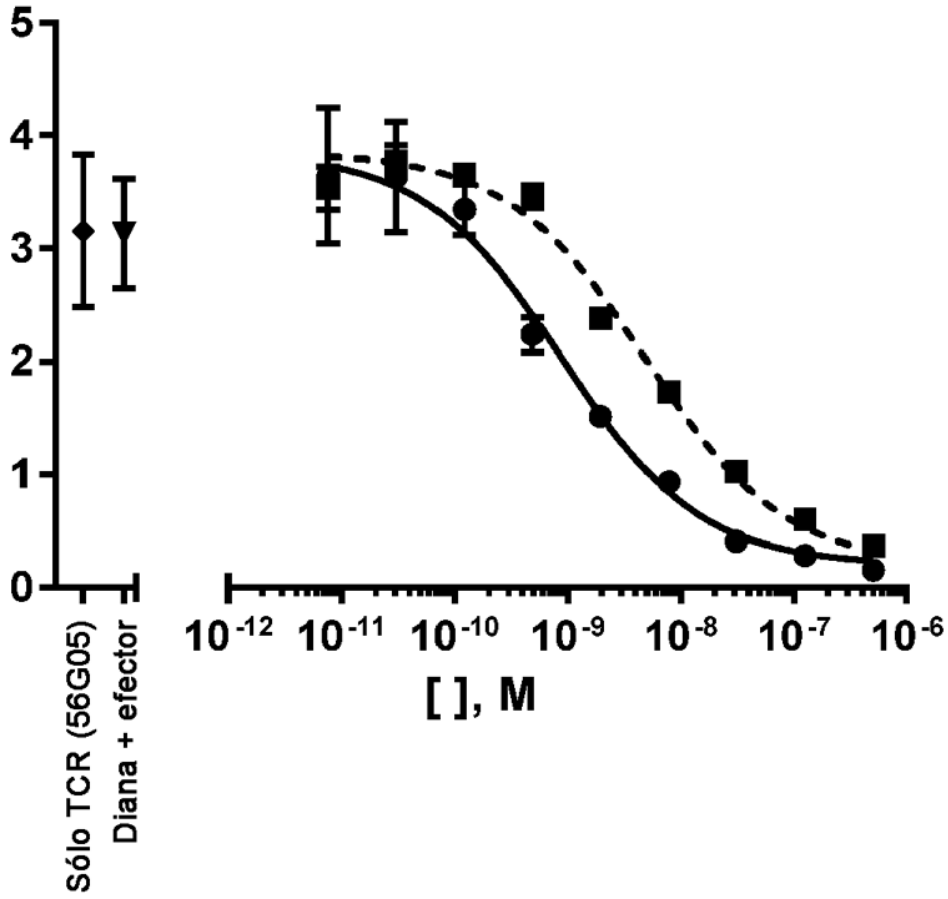

A.
FI media (PE)
200000
150000
100000
50000
0
10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6
[ ], M
B.
MFI (PE medio)
80000
60000
40000
20000
0
10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6
[ ], M
C.
FI media (PE)
4000
3000
2000
1000
0
10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6
[ ], M
D.
MFI (PE medio)
100000
75000
50000
25000
0
10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6
[ ], M

Figura 42:


5
4
3
2
1
0
Sólo TCR (56G05)
Diana + efector
10-12 10-11 10-10 10-9 10-8 10-7 10-6
[ ], M