

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 994 684**

51 Int. Cl.:

A61P 37/06 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **01.07.2020** **PCT/EP2020/068589**

87 Fecha y número de publicación internacional: **07.01.2021** **WO21001458**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **01.07.2020** **E 20764933 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.08.2024** **EP 3993876**

54 Título: **Anticuerpos anti-CD154 y usos de estos**

30 Prioridad:

01.07.2019 US 201962869489 P
30.04.2020 US 202063018123 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
29.01.2025

73 Titular/es:

TONIX PHARMA LIMITED (100.00%)
3 Marine Road Dun Laoghaire
Dublin A96 HW25, IE

72 Inventor/es:

LEDERMAN, SETH

74 Agente/Representante:

FERNÁNDEZ POU, Felipe

Observaciones:

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

ES 2 994 684 T3

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

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos anti-CD154 y usos de estos

5 Listado de Secuencias

La presente solicitud contiene un listado de secuencias que se envió por vía electrónica en formato ASCII. Dicha copia ASCII, creada el 1 de julio de 2020, se denomina 104545-0037-WO1_SL.txt y tiene un tamaño de 753 090 bytes.

10 Campo de la descripción

La presente descripción se refiere a anticuerpos aislados con funciones efectoras modificadas (por ejemplo, selectivamente reducidas) que se unen a CD154. La descripción se refiere, además, a moléculas de ácido nucleico que codifican tales anticuerpos, composiciones que comprenden tales anticuerpos y métodos de uso de tales anticuerpos y composiciones para inhibir una respuesta inmunitaria, tal como en el tratamiento del rechazo de trasplantes, respuestas inmunitarias inflamatorias, autoinmunitarias y disfuncionales asociadas con infecciones y enfermedades virales, afecciones y enfermedades alérgicas, ateroscleróticas o neurodegenerativas.

20 Antecedentes de la invención

CD154 (también conocido como ligando de CD40, CD40L, gp39, proteína de activación relacionada con TNF (TRAP), antígeno 5c8, T-BAM) es una proteína que se expresa principalmente en linfocitos T CD4⁺ activados y se reconoce como la base molecular de la función de los linfocitos T auxiliares (Lederman, S., y otros, J. Exp. Med. 175:1091-1101 (1992)). El CD154 es un miembro de la superfamilia de moléculas TNF y se expresa funcionalmente como un homotrímero. Sin embargo, algunas de las unidades de CD154 tienen cadenas peptídicas acortadas, de manera que los trímeros de CD154 pueden considerarse heterotrímeros de elementos todos codificados por el gen CD154 (Karpusas M, y otros, Structure. 3(10):1031-9 (1995); Hsu YM, y otros, J Biol Chem. 272(2):911-5 (1997)). El CD154 se une al CD40 en las células presentadoras de antígenos (APC), lo que produce muchos efectos en dependencia del tipo de célula diana. El principal socio de unión del CD154 es el CD40, aunque se han descrito otros socios de unión como la α M β 2 (Mac-1), la integrina α 5 β 1 y la α IIb β 3 (El Fakhry Y, y otros, J Biol Chem. 287:18055 (2012); Wolf D, y otros, Circ Res. 109:1269 (2011); Michel NA, y otros, Front Cardiovasc Med. 4:40 (2017)). El CD154 actúa como una molécula coestimulante para los linfocitos B y afecta la función de los linfocitos T auxiliares foliculares CD4⁺ (células TFH). En las células TFH, el CD154 promueve la maduración y la función de los linfocitos B al activar el CD40 en la superficie de los linfocitos B y, de esta manera, facilita la comunicación entre células en una respuesta inmunitaria humoral. La activación del CD40 por el CD154 estimula los procesos del sistema inmunitario adaptativo en los linfocitos B, que incluye la recombinación de cambio de clase de inmunoglobulina y la hipermutación somática (Lederman S, y otros, Curr Opin Hematol. 3(1):77-86 (1996)). La ausencia de CD154, por ejemplo, en el síndrome de hiper IgM ligado al cromosoma X, conduce a deficiencias en la formación de centros germinales, recombinación de cambio de clase y maduración de la afinidad de anticuerpos. (Webster EA, y otros, Arthritis Rheum. 42(6):1291-6 (1999)). La interacción CD40-CD154 está involucrada en las interacciones normales de los linfocitos T-B, que incluye el aumento de la coestimulación, la preparación de los linfocitos T, la producción de citocinas, el cambio de clase de anticuerpos y la maduración de la afinidad, y la producción de anticuerpos (Lederman, S., y otros, J. Exp. Med. 175: 1091-1101 (1992); Lederman, S., y otros, Journal of Immunol. 149:3817-3826 (1992); Lederman, S., y otros, Journal of Immunol. 152:2163 (1994); Cleary, A.M., y otros, Journal of Immunol., 155:3329-3337 (1995); Muramatsu, MK y otros, Cell 102: 553 (2000); Xu Y y Song G, J. Biomed Sci. 11(4):426-38 (2004); Quezada SA y otros, Annu Rev Immunol. 22:307-28 (2004); y las patentes de Estados Unidos núms. 5,474,771; 5,933,816; 6,331,615; 6,340,459; 6,403,091; 6,451,310; 6,455,044; 6,592,868; 6,610,294; 6,793,924; 7,070,777; y 9,765,150).

CD154 interactúa, además, con CD40 en las células endoteliales activadas (Yellin MJ y otros, J. Exp. Med 182:1857-1864 (1995)), activados fibroblasts (Yellin, MJ y otros, J Leukoc Biol. 58:209-216 (1995)), en otros tipos de células y en muchos cánceres (Paulie, S, y otros, Cancer Immunol Immunother. 20, 23-8 (1985)). Los sobrenadantes de células epiteliales pulmonares humanas Calu-3 infectadas con coronavirus asociado al síndrome respiratorio agudo severo (SARS-CoV) indujeron CD40 en las células dendríticas (Yoshikawa T, y otros, J. Virol. 83(7): 3039-3048 (2009)). En la retina, durante la inflamación, el CD40 se expresa en las células endoteliales, la glía de Müller (macroglía en la retina), la microglía, las células ganglionares y las células epiteliales pigmentarias de la retina (Subauste, CS, Front Immunol 10:2958 (2019); Portillo J-AC, y otros, J Immunol. 181:8719-26 (2008); Portillo J-AC, y otros, Diabetologia. 57:2222-31(2014); Portillo J-AC, y otros, Mol Vis. 15:1383-9 (2009)). Las funciones del CD154 en una respuesta inmunitaria normalmente están estrechamente reguladas en los tejidos a lo largo del tiempo. Pueden ocurrir respuestas inmunitarias disfuncionales con expresión y función anormales de CD154 en determinados tejidos y en determinados momentos, lo que contribuye a síndromes tales como el síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), enfermedades autoinmunitarias, vasculopatías y la promoción de cánceres.

La forma soluble de CD154 (sCD154), que resulta del desprendimiento de CD154 unido a la membrana, desempeña un papel en la producción de citocinas proinflamatorias y se ha relacionado con varios trastornos autoinmunitarios y vasculares (Yellin, MJ, y otros, J. Immunol. 152:598 (1994); Yacoub D y otros, J Biol Chem. 288(50):36083-93 (2013)). Las plaquetas activadas producen CD154 y el CD154 derivado de plaquetas, particularmente el CD154 soluble, se ha

relacionado con la patología. (Henn V, y otros, Nature 391:591-594 (1998); Xu H, y otros, Transplantation. 72(11):1858-61. (2001); Danese S, y otros, Gut. 52(10):1435-41. (2003); y Charafeddine AH, y otros, Am J Transplant. 12(11):3143-51 (2012)).

5 El anticuerpo monoclonal 5c8 es un anti-CD154 humano generado en ratón que bloquea potentemente la función del CD154. (Lederman, S., y otros, J. Exp. Med. 175:1091-1101 (1992); Lederman, S., y otros, Journal of Immunol. 149:3817-3826 (1992); Lederman, S., y otros, Journal of Immunol. 152:2163 (1994); y Cleary, A.M., y otros, Journal of Immunol., 155:3329-3337 (1995)). Un anticuerpo IgG1 anti-CD154 humano humanizado (hu5c8, ruplizumab o ANTOVA®) se generó y evaluó en primates no humanos y humanos. Una estructura cristalina de hu5c8 mostró la
10 unión única de hu5c8 al trimero CD 154 y los contactos del anticuerpo con el monómero CD 154 (Karpusas M, y otros, Structure. 9(4):321-9. (2001)). El bloqueo de CD154 ha demostrado eficacia en modelos de autoinmunidad, inmunidad humoral y alotrasplante (Pierson RN 3rd, y otros, Transplantation. 68(11):1800-5 (1999); Chang AC, y otros, Transplant Proc. 31(1-2):95 (1999); Kenyon NS, y otros, Proc Natl Acad Sci US A. 96(14):8132-7 (1999); Kenyon NS, y otros, Diabetes. 48(7):1473-81. (1999); Elster EA, y otros, Transplantation. 72(9):1473-8. (2001); Elster EA, y otros, Transplant Proc. 33(1-2):675-6 (2001); Cho CS, y otros, Transplantation. 72(4):587-97 (2001); Pierson RN 3rd, y otros, Immunol Res. 23(2-3):253-62 (2001); Pfeiffer S, y otros, J Heart Lung Transplant. 20(2):250 (2001); Xu H, y otros, Transplant Proc. 33(1-2):223-4 (2001); Xu H, Transplantation. 74(7):940-3 (2002); Crowe JE Jr, y otros, Am J Transplant. 3(6):680-8 (2003); Ferrant JL, y otros, International Immunol octubre 5;11:1583 (2004); Kawai T, y otros, Am J Transplant. 4(9):1391-8 (2004); Preston EH, y otros, Am J Transplant. 5(5):1032-41 (2005); Xu H, y otros, J Immunol. 170(5):2776-82 (2003); Wu G, y otros, Xenotransplantation. 12(3):197-208 (2005); Smith RN, Am J Transplant. 6(8):1790-8 (2006); Zhang T, y otros, Transplantation. 102(3):e90-e100 (2018)). Sin embargo, los ensayos clínicos de hu5c8, en lupus eritematoso sistémico (SLE) (Huang W, y otros, Arthritis Rheum. 46(6):1554-62 (2002); Boumpas DT, y otros, Arthritis Rheum. 48:719-27. (2003); Grammer AC, y otros, J Clin Invest. 112:1506-20. (2003)) y
20 transplantation (Kawai T, y otros, Nat Med. 2000;6:114. (2000); Koyama I, y otros, Transplantation. 77(3):460-2. (2004)) se suspendieron debido a una mayor incidencia de activación plaquetaria y eventos tromboembólicos (Law y Grewal Adv Exp Med Biol. 647:8-36 (2009)). Un mecanismo para la activación plaquetaria puede estar relacionado con el CD40 en las plaquetas y la activación por el CD154 soluble (Inwald DP, y otros, Circ Res. 92(9):1041-8 (2003)). Varias observaciones sugieren que un mecanismo de trombosis en pacientes tratados con anti-CD 154 está mediado por la activación plaquetaria dependiente del receptor Fc gamma RIIa (FcγRIIA, FCGR2A, CD32A) por complejos
30 inmunitarios, particularmente complejos de orden superior, compuestos de anticuerpos anti-CD154 y CD154 soluble (Robles-Carrillo L, y otros, J Immunol. 185(3):1577-83. (2010)). Se ha demostrado que la eliminación de la unión de Fc a los receptores de Fc mediante la mutación de la región Fc para producir hu5c8 aglicosilado (IgG1 N297Q) disminuye considerablemente o elimina dicha tromboembolia (Shock, A, y otros, Arthritis Res Ther. 17:234 (2015) y Xie y otros, Journal of Immunol. 192(9):4083 (2014)), pero además reduce la eficacia del anticuerpo para inhibir o
35 prevenir el rechazo de trasplante en modelos de alotrasplante renal y de islotes rhesus (Ferrant JL y otros, International Immunol (11): 1583 (2004)). Eliminando completamente la región Fc, tal como en un fragmento de anticuerpo Fab' pegilado anti-CD154 (Dapirolizumab pegol (DZP), CDP7657, Biogen y UCB; ver, por ejemplo, el documento WO2008/118356) además, redujo el riesgo de eventos trombóticos, pero no logró tratar el lupus eritematoso sistémico (SLE) en un ensayo clínico de fase IIb (Waters J, Biocentury; Octubre 26, (2018)). Kim y otros. Se generó un anticuerpo de dominio único anti-CD154 humano silente Fc (dAb; BMS-986004; Letolizumab, BMS2h-572-633-CT-L2) mediante la fusión del dominio variable de un dAb anti-CD154 humano con el Fc de CTLA4-Ig (abatacept, ORENCIA®) y un
40 enlazador denominado "CT Long Fc" con la secuencia de aminoácidos EPKSSDK (SEQ ID NO: 325) (Kim SC y otros, Am J Transplant 17(5): 1182-1192 (2017); y la patente de los Estados Unidos núm. 9,765,150). BMS-986004 previno eficazmente el rechazo de riñón en primates no humanos y además estuvo libre de activación plaquetaria, trombosis o tromboembolia (Kim SC y otros, Am J Transplant 17(5): 1182-1192 (2017)).

La patente de Estados Unidos núm. 9.765.150 también describe BMS-986003 (BMS-2h572-633-CT), que comparte la misma secuencia de aminoácidos que BMS-986004, excepto por un residuo de glicina no natural en su extremo amino. Sin embargo, BMS-986003 indujo anticuerpos anti fármacos (ADA) en los monos tratados. Los ADA se dirigieron a la
50 porción dAb (no Fc) de la molécula y se demostró que estos anticuerpos se demostraron que bloquearon la unión de BMS-986003 a CD154, lo que sugiere que los ADA pueden ser neutralizantes. Además, estos ADA resultaron en un aumento de la eliminación de BMS-986003 en varios monos. Por el contrario, se esperaba que un anticuerpo quimérico IgG1 humano murino 5c8 tuviera una semivida plasmática prolongada. (Patente de Estados Unidos núm. 9,765,150).

55 Si bien BMS-986004 demostró eficacia en un ensayo clínico de púrpura trombocitopénica inmunitaria (ITP), el perfil farmacocinético puede ser subóptimo (NCT02273960; "Study to Evaluate Safety and Efficacy in Adult Subjects With ITP (ITP)"; resultados consultados el 1 de julio de 2019).

El mecanismo del tratamiento anti-CD154 del rechazo de trasplante o la autoinmunidad no se comprende totalmente. La terapia anti-CD154 parece más efectiva que la terapia anti-CD40, lo que sugiere que el bloqueo de su interacción no es simétrico. El anticuerpo monoclonal (AcM) hu5c8 parece ser más eficaz que un AcM anti-CD154 humanizado diferente, IDEC-131 (O'Neill NA, y otros, Transplantation. 101(9):2038-2047 (2017)). Además, un aumento de los linfocitos T reguladores, específicamente los linfocitos T Foxp3+, asociados con la terapia anti-CD 154 puede estar
60 relacionado con la eficacia (Ferrer IR, y otros, Proc Natl Acad Sci U S A. 108(51):20701-6 (2011)). Otra observación que apoya el papel de los linfocitos T reguladores fue que el CD40 soluble dimérico, pero no el CD40 monovalente, indujo linfocitos T reguladores (linfocitos T CD4+CD25+) y trató el rechazo de trasplante (Masunaga T, y otros,

Transplantation. 80:1614-1622 (2005)). Estos experimentos demostraron, además, que la valencia en la ligazón o bloqueo de CD154 puede ser relevante para la eficacia (Masunaga T, y otros, Transplantation. 80:1614-1622 (2005)). Se ha demostrado que el tratamiento anti-CD154 es particularmente eficaz para facilitar el alotrasplante con quimerismo allogénico mixto (Kawai T, y otros, Am J Transplant. 4(9):1391-8 (2004) y en xenotrasplantes (Längin M, y otros, Nature. 564(7736):430-433 (2018)).

Los anticuerpos tienen una variedad de funciones efectoras mediadas por el Fc, que incluye la unión de FcγR y la unión del complemento C1q (el primer componente de la activación del complemento), que se relacionan con las funciones efectoras y la citotoxicidad dependiente del complemento. La modificación genética de los anticuerpos puede provocar el aumento o la disminución de una o más funciones efectoras. En el extremo, el Fc puede eliminarse, por ejemplo en una construcción F(ab), pero para obtener efectos terapéuticos, tales construcciones típicamente requieren otros cambios para aumentar la semivida, tal como la modificación con polietilenglicol o la PEGilación. La eliminación total de la región Fc puede afectar la eficacia de un anticuerpo anti-CD154 -un fragmento de anticuerpo Fab' pegilado anti-CD154 (Dapirolizumab pegol (DZP), CDP7657, Biogen y UCB) fracasaron en el tratamiento del SLE en un ensayo clínico fase IIb (Waters J, Biocentury; 26 de octubre de (2018)). Una variante "silente" N297Q IgG1 (asialo- o aglico-) de hu5c8 carecía de unión a FcγR, pero fue eficaz para inhibir la respuesta inmunitaria humoral, pero no el rechazo de órganos en primates no humanos. (Tao, M.H. y Morrison, S.L. J. Immunol. 143:2595-2601. (1989), Ferrant J.L. y otros, International Immunol (11):1583 (2004)). Por lo tanto, una solución para equilibrar la eficacia y la seguridad de los anticuerpos anti-CD 154 es modificar genéticamente un anticuerpo anti-CD 154 con un Fc modificado con una función efectora selectivamente disminuida. Los esfuerzos anteriores para modificar la función efectora se han centrado en las sustituciones en la región bisagra/CH2 de IgG, que pueden afectar la unión de FcγR y C1q. Una consideración en el diseño de los anticuerpos es mantener la región CH2/CH3 del dominio Fc que se requiere para las interacciones con FcRn, el receptor Fc neonatal, que confiere una semivida sérica prolongada.

Entre los anticuerpos IgG1, los estudios de sustitución identificaron varios residuos que afectan la unión de Fc a C1q y a varios FcγR (FcγRI/CD64, FcγRIIa/CD32a, FcγRIIb/CD32b y FcγRIIIa/CD16a y FcγRIIIb/CD16b). Por ejemplo, se ha demostrado que los residuos Fc en las posiciones 234 y 235 tienen un efecto modulador sobre la unión de Fc-CD64 (Canfield, SM y Morrison, S L J. Exp. Med. 173: 1483-1491 (1991); Chappel, MS, y otros, Proc. Natl Acad. Sci. USA, 88, 9036-9040 (1991); Alegre, M-L, y otros, J. Immunol. 148: 3461-3468 (1992); Hezareh, M, y otros, J. Virol. 75, 12161-12168 (2001); unión de Fc-CD32A (Hezareh, M, y otros, J. Virol. 75, 12161-12168 (2001); Armour, KL, y otros, Mol. Immunol. 40, 585-593. (2003)), unión de Fc-CD16 (Hezareh, M, y otros, J. Virol. 75, 12161-12168 (2001)) y la unión de Fc-C1q (Xu, D, y otros, Cell. Immunol. 200, 16-26 (2000); Hezareh, M, y otros, J. Virol. 75, 12161-12168 (2001)). Además, se demostró que la posición 331 de CH2 está involucrada en la unión de Fc-CD64 (Canfield, SM y Morrison, S L J. Exp. Med. 173: 1483-1491 (1991)) y la unión de Fc-C1q (Tao, MH, y otros, J. Exp. Med. 178, 661- 667 (1993); Hezareh, M, y otros, J. Virol. 75, 12161-12168 (2001); Idusogie, EE, y otros, J. Immunol. 164:4178- 4184 (2000)). Como un ejemplo, la afinidad por los FcγR (FcγI, FcγRIIa y FcγRIIIa) y C1q se ha reducido mediante las sustituciones en IgG1 de L234F/L235E/P331S (Oganesyan V, y otros, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 64 (Pt 6):700-704 (2008)). Como otro ejemplo, tepicizumab es un anticuerpo humanizado OKT3 con Fc IgG1 con funciones efectoras reducidas debido a sustituciones (L234A, L235A) que está en desarrollo para el tratamiento de la diabetes (Xu, D, y otros, Cell. Immunol. 200, 16-26. (2000); Herold KC, y otros, N Engl J Med. 10.105 (2019)). Se empleó otra modificación de Fc de IgG1 modificada (denominada "silente") con sustituciones C220S, C226S, C229S y P238S para crear una proteína de fusión que expresa CTLA4 en CTL4-Ig (Abatacept, ORENCIA®). Las sustituciones de cisteína eliminan los enlaces disulfuro entre las cadenas pesadas (HC) en un dímero (C226S y C229S). Mediante el uso de este Fc modificado, Kim y otros. generaron un anticuerpo anti-CD 154 humano humanizado Fc silente, que era una versión mutada de hu5c8 ("hu5c8-mod") que contenía la misma cola de IgG1 modificada que no se une a Fc como el dAb anti-CD154 BMS-986004 (Kim SC y otros, Am J Transplant 17(5): 1182-1192 (2017)). La patente de Estados Unidos núm. 9,765,150 describe, además, un anticuerpo anti-CD154 humano "5c8" generado mediante la fusión de parte o la totalidad del dominio variable de "5c8" con el Fc de abatacept y un enlazador tanto de "CT largo" con la secuencia de aminoácidos AST-EPKSSDK (SEQ ID NO: 326) como "CT corto" con la secuencia de aminoácidos AS (SEQ ID NO: 214) (patente de Estados Unidos núm. 9,765,150).

Entre los anticuerpos IgG2, la afinidad por FcγR se ha reducido mediante las sustituciones H268Q/309L/A330S/P331S en una versión silenciada que se ha denominado "IgG2m4" (An, Z. y otros, MAbs 1:572-579. (2009)). Otro Fc modificado genéticamente incluye sustituciones V234A/G237A/P238S/H268A/V309L/A330S/P331S que eliminan las afinidades por FcγR y la proteína del complemento C1q (Vafa, O. y otros, Methods. 1:65(1): 114-26. (2014)).

Entre los anticuerpos IgG4, la afinidad por FcγR se ha disminuido mediante las sustituciones F234A y L235A. Estas sustituciones se han combinado junto con la sustitución S228P en la bisagra central (IgG1 e IgG2 tienen una prolina en la posición 228), lo que estabiliza aún más la molécula IgG4 para evitar el intercambio del brazo Fab (Silva, JP y otros, J Biol Chem. 290(9):5462-5469. (2015)), en una versión "silenciada" de IgG4, que se ha denominado "IgG4 Pro-AlaAla" (Tao, M.H. y Morrison, S.L. J. Immunol. 143:2595-2601. (1989) y Alegre, M-L, y otros, J. Immunol. 148: 3461-3468. (1992)). Dulaglutida es una proteína de fusión que incluye un agonista del péptido 1 similar al glucagón (GLP-1) fusionado a un Fc de IgG4 del tipo "IgG4 Pro-AlaAla", que se comercializa como TRULICITY®. Otros han modificado el Fc de IgG4 con sustituciones F234A y L235A con la sustitución S228P (Xu, D, y otros, Cell. Immunol. 200, 16-26. (2000)), o emplearon las sustituciones L235E con la sustitución S228P sin modificar el F234 (Reddy MP, y otros, J Immunol. 164: 1925-1933. (2000) y Li, X, y otros, Int J Clin Exp Med. 8(3):3607-18. (2015)).

La ingeniería de anticuerpos es una tecnología compleja y costosa con resultados impredecibles *in vivo* (Saeed AF, y otros, *Frontiers in Microbiology*; Artículo 495; marzo (2017)). Una estrategia de ingeniería de anticuerpos que incluye cambios estructurales u otras modificaciones que se optimizan para un anticuerpo puede comprometer a otro anticuerpo *in vivo* (Yan B, y otros, *The Journal of Biol. Chem.* 287(8):5891-97 (2012)). El efecto de una mutación en un residuo particular (*por ejemplo*, N297Q) en un anticuerpo particular (*por ejemplo*, IgG1) puede tener un efecto clínico muy diferente de otro tipo de mutación en el mismo anticuerpo (*por ejemplo*, N297A en IgG1). Además, los efectos clínicos de los cambios intramoleculares dentro de un subtipo de anticuerpo (*por ejemplo*, una mutación L235 en IgG1) puede ser completamente impredecible cuando los mismos cambios intramoleculares ocurren dentro de otro subtipo de anticuerpo (*por ejemplo*, una mutación L235 dentro de IgG4). Los cambios intramoleculares, además, pueden resultar en diferentes efectos clínicos, en dependencia de cómo las distintas mutaciones puedan emparejarse dentro de un anticuerpo. Las diferencias específicas de cada especie aumentan la imprevisibilidad del efecto de una mutación del receptor Fc sobre la eficacia frente a la toxicidad de los anticuerpos anti-CD154. En el pasado, los anticuerpos anti-CD154 desarrollados para su uso en estudios de trasplantes no causaron trombosis en roedores preclínicos y en determinados primates no humanos, pero varios pacientes humanos experimentaron complicaciones tromboembólicas en ensayos clínicos con los mismos anticuerpos (*es decir*, ruplizumab, toralizumab, y ABI793) (Pinelli DF y Ford M.L. *Immunotherapy* 7(4): 399-410 (2015)).

Hasta la fecha, no ha habido un anticuerpo anti-CD154 completamente humano o humanizado que satisfaga la necesidad de un producto que pueda prevenir eficazmente en humanos los rechazos de trasplantes (que incluye la enfermedad de injerto contra huésped), enfermedades y afecciones inflamatorias, enfermedades y afecciones autoinmunitarias, respuestas inmunitarias disfuncionales asociadas con infecciones y enfermedades virales, afecciones alérgicas, afecciones ateroscleróticas o afecciones y enfermedades neurodegenerativas, con un nivel aceptable de efectos secundarios, tales como efectos secundarios tromboembólicos. Esto resalta la necesidad de anticuerpos y variaciones de estos, que se unan a CD154 con alta afinidad e inhiban los efectos aguas abajo de la unión de CD154:CD40, en ausencia de efectos secundarios tóxicos tales como la trombosis.

Resumen de la invención

Un primer aspecto de la presente invención proporciona un anticuerpo aislado que se une a CD 154 de acuerdo con la reivindicación 1. Otros aspectos de la invención son evidentes a partir de las reivindicaciones dependientes. Específicamente, la invención proporciona un anticuerpo aislado que se une a CD154, que comprende un dominio variable humanizado, en donde el dominio variable comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), y en donde la VH se une operativamente a una región Fc humana derivada de IgG4 y que comprende modificaciones de aminoácidos S228P y L235A; en donde la VH comprende (a) una CDR1 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 57, (b) una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58, y (c) una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 59; y en donde la VL comprende (a) una CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60, (b) una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 61, y (c) una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62. En algunas modalidades, la región Fc comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 23 o 42. En algunas modalidades la cadena pesada comprende una región constante que comprende la secuencias de aminoácidos de la SEQ ID NO: 95 o 109. En algunas modalidades, la VH comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64. En algunas modalidades, la VL comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66. En algunas modalidades, la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 151 o 165. En algunas modalidades, la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 196. En algunas modalidades, la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 196 y una cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 151 o 165.

Además, en la presente descripción se proporciona una molécula de ácido nucleico aislada que codifica una cadena ligera y una cadena pesada de un anticuerpo anti-CD 154 descrito en la presente descripción. Además, en la presente descripción se proporciona una primera molécula de ácido nucleico aislada y una segunda molécula de ácido nucleico aislada, en donde la primera y la segunda molécula de ácido nucleico aislada codifican, respectivamente, una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo anti-CD 154 descrito en la presente descripción.

Además, en la presente descripción se proporciona un vector que comprenden la molécula de ácido nucleico aislado de acuerdo a como se describe en la presente descripción. Además, en la presente descripción se proporciona un primer vector y un segundo vector, en donde el primer vector comprende la primera molécula de ácido nucleico aislada como se describe en la presente descripción, y el segundo vector comprende la segunda molécula de ácido nucleico aislada como se describe en la presente descripción. Además, en la presente descripción se proporciona una célula transformada que comprende la molécula de ácido nucleico aislada como se describe en la presente descripción, la primera y la segunda moléculas de ácido nucleico aisladas como se describe en la presente descripción, el vector como se describe en la presente descripción o el primer y el segundo vectores como se describe en la presente descripción.

Además, en la presente descripción se proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-CD154 como se describe en la presente descripción en un portador farmacéuticamente aceptable. En algunas

modalidades, el anticuerpo o la composición farmacéutica para usar con el propósito de inhibir una respuesta inmunitaria en un sujeto. En algunas modalidades, el sujeto ha recibido o recibirá un trasplante de célula, tejido u órgano.

- 5 En algunas modalidades, el anticuerpo o la composición farmacéutica es para el uso en el tratamiento o la prevención de un rechazo de trasplante en el sujeto. En algunas modalidades, el rechazo de trasplante es un rechazo agudo o crónico del injerto en un receptor de injerto de un trasplante alogénico o xenotrasplante. En algunas modalidades, el método promueve una supervivencia del injerto a largo plazo de la célula, tejido u órgano injertado, en donde dicha supervivencia del injerto a largo plazo se selecciona del grupo que consiste en: (a) al menos 6 meses después del trasplante; (b) al menos 1 año después del trasplante; y (c) al menos 5 años después del trasplante.

10 En algunas modalidades, el rechazo de trasplante está asociado con un trasplante de células hematopoyéticas o de médula ósea, un trasplante alogénico de células de los islotes pancreáticos, enfermedad de injerto contra huésped o un trasplante de órgano sólido seleccionado del grupo que consiste en un trasplante de corazón, un trasplante de riñón, un trasplante de hígado, un trasplante de pulmón, un trasplante de páncreas, un trasplante de riñón-páncreas, un trasplante de corazón-pulmón, un trasplante de riñón-corazón-páncreas, un trasplante de corazón-hígado, un trasplante de corazón-hígado-riñón, un trasplante de corazón-pulmón-riñón, un trasplante de corazón-pulmón-hígado, un trasplante de pulmón-riñón, un trasplante de pulmón-hígado, un trasplante de hígado-intestino-páncreas, un trasplante de intestino-páncreas, un trasplante de hígado-riñón-intestino-páncreas y un trasplante de riñón-intestino.

15 En algunas modalidades, el anticuerpo o la composición farmacéutica es para el uso en la inducción de quimerismo hematopoyético en un receptor de trasplante mediante el trasplante de células madre hematopoyéticas al receptor. En algunas modalidades, el anticuerpo o la composición farmacéutica es para el uso en la inducción de tolerancia central en un receptor de trasplante mediante el trasplante de células madre hematopoyéticas al receptor y mediante el trasplante de un tejido del donante en el receptor, en donde las células madre hematopoyéticas producen células inmunitarias que son tolerantes al tejido del donante. En algunas modalidades, el trasplante es un xenotrasplante.

20 En algunas modalidades, el rechazo del xenotrasplante se asocia con un trasplante de órgano sólido seleccionado del grupo que consiste en un trasplante de corazón, un trasplante de riñón, un trasplante de hígado, un trasplante de pulmón, un trasplante de páncreas, un trasplante de riñón-páncreas, un trasplante de corazón-pulmón, un trasplante de riñón-corazón, un trasplante de riñón-corazón-páncreas, un trasplante de corazón-hígado, un trasplante de corazón-hígado-riñón, un trasplante de corazón-pulmón-riñón, un trasplante de corazón-pulmón-hígado, un trasplante de pulmón-riñón, un trasplante de pulmón-hígado, un trasplante de hígado-intestino-páncreas, un trasplante de intestino-páncreas, un trasplante de hígado-riñón-intestino-páncreas y un trasplante de riñón-intestino.

35 Breve Descripción De Los Dibujos

La Figura 1 proporciona el título y la viabilidad (%) de los cinco grupos estables de células CHO que expresan AcM anti-CD154 (TNX01-TNX05) en una producción en lote alimentado de 100 ml.

40 La Figura 2 proporciona un análisis SDS-PAGE de cada uno de los AcM anti-CD154 (TNX01-TNX05) que se obtienen durante el proceso de generación y purificación de proteínas. MW es el estándar de proteína que indica el peso molecular de cada banda obtenida en el gel teñido con Sypro Ruby en condiciones no reductoras. El anticuerpo TNX04 aparece como dos bandas separadas en el gel no reductor porque contiene sustituciones Cys-Ser que interrumpen los enlaces disulfuro que conectan la cadena pesada y la cadena ligera y que conectan las dos cadenas pesadas.

45 Las figuras 3(a)-3(e) proporcionan sensorgramas CD154 representativos para TNX01-TNX05, respectivamente, uniéndose al antígeno cognado CD154. Las mediciones de avidéz de los anticuerpos anti-CD154 purificados se realizaron mediante resonancia de plasmón de superficie (SPR) mediante el uso del instrumento BIACORE® T200 y un sensorchip CM-5. El cambio en el índice de refracción se graficó como respuesta en unidades de resonancia (RU) versus tiempo en el sensorgrama mediante el uso del programa informático de evaluación Biacore T200. Para cada sensorgrama, los datos de unión del CD 154 se ajustaron mediante el uso de un modelo de unión 1:1. La figura 3(f) resume los valores resultantes de K_a (1/Ms), K_d (1/s) y KD (M).

50 Las figuras 4(a) y 4(b) proporcionan los resultados cinéticos basados en el modelo de unión 1:1 ajustado a los sensorgramas de la Figura 3. Se muestran los valores promedio de la afinidad de unión KD (M) de sCD40L (es decir, sCD154) con desviaciones estándar ($n = 3$) para cada uno de los anticuerpos anti-CD154 TNX01-TNX05.

55 Las figuras 5(a)-5(e) proporcionan sensorgramas de CD154 representativos para TNX01-TNX05, respectivamente, uniéndose a Fc γ RIa (CD64). Las mediciones de avidéz de los anticuerpos anti-CD154 purificados se realizaron mediante resonancia de plasmón de superficie (SPR) mediante el uso del instrumento BIACORE® T200 y un sensorchip CM-5. El cambio en el índice de refracción se graficó como respuesta en unidades de resonancia (RU) versus tiempo en el sensorgrama mediante el uso del programa informático de evaluación Biacore T200. Para cada sensorgrama, los datos de unión de CD154 se ajustaron mediante el uso de un modelo de unión 1:1. La figura 5(f) resume los valores resultantes de K_a (1/Ms), K_d (1/s) y KD (M).

60 Las figuras 6(a) y 6(b) proporcionan los resultados cinéticos basados en el modelo de unión 1:1 ajustado a los sensorgramas de la Figura 5. Se muestran los valores promedio de afinidad de unión de Fc γ RIa (CD64) KD (M) con desviaciones estándar ($n = 3$). Un valor de KD más bajo indica una unión más estrecha entre el anticuerpo y

FcyRIA, de manera que TNX02 se une a FcyRIA con mayor fuerza, seguido por (en orden) TNX04, TNX05, TNX01 y TNX03.

Las figuras 7(a) y 7(b) proporcionan los resultados cinéticos basados en el modelo de unión 1:1 ajustado a los sensorgramas de la Figura 3. Se muestran los valores promedio de la afinidad de unión de TNX02, TNX04 y TNX05 KD (M) a un panel FcyR de baja afinidad (CD16aF, CD16aV, CD32aH, CD32bF) con desviaciones estándar (n = 3). No pudieron determinarse los valores de KD para TNX01 y TNX03 porque estas variantes mostraron una actividad de unión insignificante. Un valor de KD más bajo indica una unión más estrecha entre el anticuerpo y FcyR.

Las figuras 8(a) y 8(b) proporcionan representaciones gráficas de la intensidad de fluorescencia media (MFI) en función de la concentración (nM) en la unión de cada anticuerpo a la superficie de (a) células Jurkat D1.1, que son CD154 positivas, o (b) células Jurkat, que son CD154 negativas, obtenidas mediante citometría de flujo. La Figura 8(c) proporciona las características de unión (B_{máx} (número máximo de sitios de unión), h (pendiente de Hill) y K_d aparente (concentración de ligando que se une a la mitad de los sitios del receptor en equilibrio)) de cada anticuerpo anti-CD154 (TNX01-TNX05), un anticuerpo de control positivo (anti-CD40L humano generado en ratón o CD140) y un anticuerpo de control negativo (SYNAGIS®) a células D1.1 (CD154 positivas) según se analizó mediante el uso de un ensayo de unión de células FACS de alto rendimiento realizado con los diversos anticuerpos.

Las figuras 9(a), 9(b) y 9(c) proporcionan mapas de varias modificaciones de aminoácidos para la región Fc de IgG1 (Figura 9(a)), IgG2 (Figura 9(b)) e IgG4 (Figura 9(c)) que pueden modificar (*por ejemplo*, reducir) las funciones efectoras del FcR.

La Figura 10 proporciona un análisis SDS-PAGE de cada uno de los AcM anti-CD154 (TNX06-TNX13) que se obtienen durante el proceso de generación y purificación de proteínas. STD es el estándar de proteína que indica el peso molecular de cada banda obtenida en el gel teñido con Sypro Ruby en condiciones no reductoras (NR) o reductoras (R). Los carriles en el gel, de izquierda a derecha, son los siguientes: (1) STD; (2) TNX06(NR); (3) TNX06(R); (4) STD; (5) TNX07(NR); (6) TNX07(R); (7) STD; (8) TNX08(NR); (9) TNX08(R); (10) STD; (11) TNX09(NR); (12) TNX09(R); (13) STD; (14) TNX10(NR); (15) TNX10(R); (16) STD; (17) TNX11(NR); (18) TNX11(R); (19) STD; (20) TNX12(NR); (21) TNX12(R); (22) STD; (23) TNX13(NR); (24) TNX13(R); (25) STD; (26) STD.

La figura 11 proporciona los puntajes de comparabilidad de resonancia de plasmón de superficie (SPR) de la unión de sCD154 por TNX06-13 en comparación con la de TNX02. Las puntuaciones se expresan como porcentaje de similitud mediante comparación por pares.

La Figura 12(a) resume los datos generados a partir del análisis de resonancia de plasmón de superficie (SPR) y de los valores de KD aparente calculados (afinidad; relación de kd a ka) para la unión de TNX06-13 a FcyRIA (CD64) y TNX02. Las figuras 12(b) y 12(c) muestran los valores promedio de afinidad de unión de FcyRIA (CD64) KD (M) con desviaciones estándar (n = 3). Un valor de KD más bajo indica una unión más estrecha entre el anticuerpo y FcyRIA, de manera que TNX02 se une a FcyRIA con mayor fuerza, seguido por (en orden) TNX13, TNX07, TNX12, TNX06, TNX10, TNX08, y TNX09.

La figura 13(a) proporciona los valores medios de KD basados en los datos del sensorgrama que se obtienen para la unión de TNX02 y TNX06-13 a FcyR de baja afinidad. La figura 13(b) muestra los valores promedio de afinidad de unión de TNX02, TNX06-10, TNX12 y TNX13 KD (M) a un panel FcyR de baja afinidad (CD16aF, CD16aV, CD32aH, CD32bF) con desviaciones estándar (n = 3). No pudieron determinarse los valores de KD para TNX11 y para algunos componentes del panel FcyR para TNX09, TNX10 y TNX12 porque estas variantes mostraron una actividad de unión insignificante. Un valor de KD más bajo indica una unión más estrecha entre el anticuerpo y FcyR.

La Figura 14(a) proporciona representaciones gráficas de la intensidad de fluorescencia media (MFI) en función de la concentración (nM) en la unión de cada anticuerpo a la superficie de las células Jurkat D1.1, que son CD154 positivas. La Figura 14(b) proporciona las características de unión (B_{máx} (número máximo de sitios de unión), h (pendiente de Hill) y K_d aparente (concentración de ligando que se une a la mitad de los sitios del receptor en equilibrio)) de cada anticuerpo anti-CD 154 (TNX06-TNX13), un anticuerpo de control positivo (anti-CD40L humano generado en ratón o CD154) y un anticuerpo de control negativo (SYNAGIS®) a células D1.1 (CD154 positivas) según se analizó mediante el uso de un ensayo de unión de células por FACS de alto rendimiento realizado con los diversos anticuerpos.

Descripción Detallada de la Invención

La descripción técnica que se expone más abajo puede, en algunos aspectos, ir más allá del alcance de las reivindicaciones. Los elementos de la descripción que no caen dentro del alcance de las reivindicaciones se proporcionan como información.

Definiciones y técnicas generales

A menos que se defina de cualquier otra manera en la presente descripción, los términos científicos y técnicos usados en esta solicitud tendrán los significados que se entienden comúnmente por los expertos en la técnica. Generalmente, la nomenclatura usada en relación con, y técnicas de, cultivo de células y tejidos, biología molecular, inmunología, microbiología, genética y química e hibridación de proteínas y ácidos nucleicos descritas en la presente descripción son bien conocidas y comúnmente usadas en la técnica. En caso de conflicto, prevalecerá la presente descripción, incluidas las definiciones.

Los métodos y técnica de la presente descripción emplearán, a menos que se indique de cualquier otra manera, técnicas convencionales de biología molecular (que incluye técnicas recombinantes), microbiología, biología celular, bioquímica e inmunología, que están dentro del estado de la técnica. Tales técnicas se explican completamente en la bibliografía, tal como, Green MR & Sambrook J. Molecular Cloning: A Laboratory Manual, 4ta ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2012); Ausubel y otros, Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology, 5ta ed., Wiley, John & Sons, Inc. (2002); Harlow y Lane Using Antibodies: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1998); y Coligan y otros, Short Protocols in Protein Science, Wiley, John & Sons, Inc. (2003); Oligonucleotide Synthesis (M.J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J.E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal Cell Culture (R.I. Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell y Tissue Culture (J.P. Mather y P.E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J.B. Griffiths, y D.G. Newell, eds., 1993-1998) J. Wiley y Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J.M. Miller y M.P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F.M. Ausubel y otros, eds., John Wiley & Sons, Inc., 2003); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis y otros, eds., 1994).

Las reacciones enzimáticas y técnicas de purificación se realizan de acuerdo con las especificaciones del fabricante, como comúnmente se realizan en la técnica o como se describen en la presente descripción. Las nomenclaturas usadas en relación con, y los procedimientos y técnicas de laboratorio de, química analítica, química orgánica sintética, y química medicinal y farmacéutica descritas en la presente descripción son aquellas bien conocidas y usadas comúnmente en la técnica.

Las técnicas estándar se usan para síntesis química y análisis químicos.

A lo largo de esta descripción y las modalidades, se entenderá que la palabra "comprender" o variaciones tales como "comprende" o "que comprende", implica la inclusión de un entero o grupo de enteros declarados pero no la exclusión de cualquier otro entero o grupo de enteros. "Que comprender" puede ser sinónimo de "que incluye" o "que contiene".

Se entiende que dondequiera se describan en la presente descripción las modalidades con el lenguaje "que comprende", se proporcionan de cualquier otra manera las modalidades análogas descritas en los términos de "que consiste en" y/o "que consisten esencialmente de". Como se usa en la presente descripción, "que consiste en" es un término cerrado que incluye solo los elementos específicos enumerados, y "que consiste esencialmente en" incluye los elementos específicos enumerados y puede incluir elementos adicionales no enumerados y no materiales.

El término "que incluye" se usa para expresar "que incluye pero no se limita a". "Incluir" y "que incluye pero no se limita a" se usan indistintamente.

Algún ejemplo(s) después del término "por ejemplo." o "por ejemplo" no pretende ser exhaustivo ni limitante.

A menos que de cualquier otra manera el contexto lo requiera, los términos singulares incluirán pluralidades y los términos en plural incluirán el singular.

Los artículos "un", "una" y "el/la" se usan en la presente descripción para hacer referencia a uno o más de uno (es decir, al menos uno) del objeto gramatical del artículo. A manera de ejemplo, "un elemento" significa un elemento o más de un elemento. Como se usa en la presente descripción, el término "aproximadamente" que modifica la cantidad de un ingrediente, parámetro, cálculo, o medida en las composiciones de la descripción o empleado en los métodos de la descripción se refiere a la variación en la cantidad numérica que puede ocurrir, por ejemplo, a través de una medición típica y los procedimientos de manipulación de líquido usados para preparar los polipéptidos aislados o las composiciones farmacéuticas en el mundo real; a través del error inadvertido en estos procedimientos; a través de las diferencias en la fabricación, fuente, o pureza de los ingredientes empleados para preparar las composiciones o llevar a cabo los métodos; y similares sin tener un efecto sustancial en los atributos químicos o físicos de las composiciones o métodos de la descripción. Tal variación puede estar dentro de un orden de magnitud, típicamente dentro del 10 %, más típicamente dentro del 5 % de un valor o intervalo dado. El término "aproximadamente" abarca, además, cantidades que difieren debido a diferentes condiciones de equilibrio para una composición que resulta de una mezcla inicial particular. Modificadas o no por el término "aproximadamente", los párrafos incluyen equivalentes a las cantidades. La referencia a "aproximadamente" un valor o parámetro en la presente descripción incluye (y describe) modalidades que están dirigidas a ese valor o parámetro per se. Por ejemplo, la descripción que hace referencia a "aproximadamente X" incluye la descripción de "X". Los intervalos numéricos son inclusivos para los números que definen el intervalo.

A pesar de que los intervalos y parámetros numéricos que exponen el amplio alcance de la descripción son aproximaciones, los valores numéricos que se exponen en los ejemplos específicos se informan tan precisos como sea posible. Cualquier valor numérico, sin embargo, contiene determinados errores inherentes que resultan de la desviación estándar encontrada en sus respectivas mediciones de prueba. Además, se entiende que todos los intervalos descritos en la presente descripción abarcan todos y cada uno de los subintervalos que se incluyen en ellos. Por ejemplo, un intervalo dado de "1 a 10" debe considerarse que incluye cualquiera y todos los subintervalos entre (e incluyendo) el valor mínimo de 1 y el valor máximo de 10; esto es, todos los subintervalos que comienzan con el

valor mínimo de 1 o más, por ejemplo, 1 a 6,1, y que terminan con un valor máximo de 10 o menos, por ejemplo, 5,5 a 10.

Los métodos y materiales ilustrativos se describen en la presente descripción, aunque los métodos y materiales similares o equivalentes a los descritos en la presente descripción pueden usarse en la práctica o en las pruebas de la presente solicitud. Los materiales, métodos y ejemplos son solo ilustrativos y no deben interpretarse como limitantes.

Definiciones

Los siguientes términos, a menos que se indique de cualquier otra forma, se entenderán que tienen los siguientes significados: Como se usa en la presente descripción, el término "anticuerpo" o "Ac" se refiere a una molécula de inmunoglobulina (*por ejemplo*, anticuerpos completos, fragmento de anticuerpo o anticuerpos modificados) capaces de reconocer y unirse a una diana o antígeno específico, tal como un carbohidrato, polinucleótido, lípido, polipéptido, etc., a través de al menos un sitio de reconocimiento de antígeno, ubicado en la región variable de la molécula de inmunoglobulina. Como se usa en la presente descripción, el término "anticuerpo" puede abarcar cualquier tipo de anticuerpo, que incluye, pero no se limita a, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos humanos, anticuerpos modificados genéticamente (que incluye anticuerpos humanizados, anticuerpos completamente humanos, anticuerpos quiméricos, anticuerpos de cadena única, anticuerpos seleccionados artificialmente, anticuerpos con CDR otorgados, etc.) que se unen específicamente a un antígeno determinado (*por ejemplo*, CD154). Además, "anticuerpo" y/o "inmunoglobulina" (Ig) se refiere a un polipéptido que comprende al menos dos cadenas pesadas (H) (aproximadamente 50-70 kDa) y dos cadenas ligeras (L) (aproximadamente 25 kDa), opcionalmente interconectadas mediante enlaces disulfuro. Hay dos tipos de cadena ligera: λ y κ . En los humanos, las cadenas ligeras λ y κ son similares, pero solo un tipo está presente en cada anticuerpo. Las cadenas pesadas se clasifican como μ , delta, gamma, alfa, o epsilon, y definen el isotipo del anticuerpo como IgM, IgD, IgG, IgA e IgE, respectivamente. Véase generalmente, Fundamental Immunology, Ch. 7 (Paul, W., ed., 2da ed. Raven Press, N.Y. (1989)). Los anticuerpos descritos en la presente descripción pueden ser "funcionalmente divalentes" o "funcionalmente monovalentes". En otras palabras, los anticuerpos descritos en la presente descripción pueden tener un sitio de unión al antígeno (monovalente) o dos sitios de unión al antígeno que típicamente se unen mediante enlaces disulfuro (divalentes). En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD154 es un anticuerpo IgG1. El anticuerpo anti-CD154 puede ser un anticuerpo IgG2. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 es un anticuerpo IgG4. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD154 no contiene el residuo de lisina final en su extremo C-terminal para mejorar la estabilidad del anticuerpo. Véase, *por ejemplo*, Jiang G y otros, J Pharm Sci. Jul;105(7):2066-72 (2016); y Hintersteiner B. MAbs. 2016 Nov/Dec;8(8):1548-1560 (2016). Se sabe en la técnica que cada cadena pesada y cadena ligera se expresa comprendiendo una secuencia líder (también conocida como secuencia señal) en su extremo N, que se usa para transportar las cadenas recién sintetizadas al retículo endoplásmico. Durante el procesamiento postraduccional, las secuencias líderes se eliminan y, por lo tanto, no están presentes en la cadena final o en el anticuerpo maduro.

Como se usa en la presente descripción, el término "anticuerpo monoclonal" o "AcM" se refiere a un anticuerpo producido por un conjunto idéntico de células inmunitarias que son cada una clones de una célula madre única. Los anticuerpos monoclonales tienen afinidad monovalente (es decir, se unen al mismo epítipo).

Como se usa en la presente descripción, el término anticuerpos "quiméricos" se refiere a anticuerpos y fragmentos de unión al antígeno de estos que comprenden porciones de dos o más especies diferentes (*por ejemplo*, ratón y humano). Los anticuerpos quiméricos pueden producirse con regiones variables de ratón de especificidad deseada empalmadas en segmentos de genes de dominio constante humano (*por ejemplo*, Patente de Estados Unidos núm. 4.816.567). De esta manera, los anticuerpos no humanos pueden modificarse para hacerlos más adecuados para la aplicación clínica humana. El término "quimérico" puede referirse a una secuencia no natural que se ha manipulada para tener uno o más cambios en relación con una secuencia natural. Un anticuerpo quimérico como se usa en la presente descripción significa un anticuerpo que comprende regiones de dos o más anticuerpos diferentes.

Como se usa en la presente descripción, el término anticuerpos "humanizados" se refiere a anticuerpos quiméricos de una especie no humana, cuyas secuencias de aminoácidos se han modificado para aumentar su similitud con los anticuerpos producidos en humanos. En algunas modalidades, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas quiméricas, cadenas de inmunoglobulinas o fragmentos de estas (tales como Fv, Fab, Fab', F(ab')₂ u otras subsecuencias de unión al antígeno de los anticuerpos) que contienen una secuencia mínima derivada de una inmunoglobulina no humana. Opcionalmente, los anticuerpos humanizados son derivados de inmunoglobulinas humanas (es decir, anticuerpo recipiente) en las que los residuos de una o más regiones determinantes de la complementariedad (CDR) del anticuerpo recipiente se sustituyen por residuos de una o más CDR de un anticuerpo de una especie no humana (anticuerpo donante) que tienen la especificidad, afinidad, y capacidad deseadas. En algunas modalidades, las especies no humana es un ratón, una rata o un conejo. Los AcM humanizados o injertados con CDR son particularmente útiles como agentes terapéuticos para humanos porque no se eliminan de la circulación tan rápidamente como los anticuerpos de ratón y típicamente no provocan una reacción inmunitaria adversa. Generalmente, un anticuerpo humanizado tiene uno o más residuos de aminoácidos introducidos en él a partir de una fuente no humana.

En algunas modalidades, el anticuerpo quimérico es un anticuerpo humanizado, por ejemplo, un anticuerpo anti-CD154 humanizado. Un anticuerpo anti-CD154 humanizado puede comprender la secuencia de aminoácidos de una o más regiones marco humanas y/o la secuencia de aminoácidos de al menos una porción de una región constante humana y comprende además secuencias derivadas de un anticuerpo no humano, por ejemplo, secuencias CDR no humano (*por ejemplo*, de ratón). En algunas modalidades, el anticuerpo humanizado comprende una región constante humana. Opcionalmente, todas las regiones marco en el anticuerpo humanizado son regiones marco humanas.

Los anticuerpos humanizados pueden generarse mediante el reemplazo de secuencias no humanas de la región variable Fv que no están directamente involucradas en la unión del antígeno con secuencias equivalentes de regiones variables Fv humanas. Los métodos generales para generar anticuerpos humanizados se proporcionan en Morrison, S. L., Science, 229:1202-1207 (1985), en Oi y otros, BioTechniques, 4:214 (1986), en Jones y otros, Nature 321:522-525 (1986), en Riechmann y otros, Nature, 332:323-327 (1988), en Verhoeven y otros, Science, 239: 1534-1536 (1988), en Staelens y otros, 2006 Mol Immunol 43: 1243-1257, y en la patente de Estados Unidos núm. 5,225,539; patente de Estados Unidos núm. 5,585,089; patente de Estados Unidos núm. 5,693,761; patente de Estados Unidos núm. 5,693,762; patente de Estados Unidos núm. 5,859,205; y patente de Estados Unidos núm. 6,407,213. Estos métodos incluyen aislar, manipular y expresar las secuencias de ácidos nucleicos que codifican la totalidad o parte de las regiones variables de Fv de inmunoglobulina de al menos una de una cadena pesada o ligera. Las fuentes de tal ácido nucleico se conocen bien por los expertos en la técnica y, por ejemplo, pueden obtenerse a partir de un hibridoma que produce un anticuerpo contra una diana predeterminada, como se describió anteriormente, a partir de genes de inmunoglobulina de línea germinal o a partir de construcciones sintéticas. El ADN recombinante que codifica el anticuerpo humanizado puede clonarse después en un vector de expresión apropiado. Los anticuerpos humanizados son típicamente anticuerpos humanos en los cuales algunos residuos de CDR y posiblemente algunos residuos de la región marco se sustituyen por residuos de sitios análogos en los anticuerpos de roedor. Véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos núms. 5,225,539; 5,585,089; 5,693,761; 5,693,762; 5,859,205. Véase, además la de Estados Unidos núm. 6,180,370, y la Publicación internacional PCT núm. WO 01/27160, donde se describen anticuerpos humanizados y técnicas para producir anticuerpos humanizados que tienen una afinidad mejorada por un antígeno predeterminado. Además, los anticuerpos humanizados y quiméricos pueden modificarse para comprender residuos que no se encuentran en el anticuerpo receptor o en el anticuerpo donante para mejorar aún más las propiedades del anticuerpo, tal como, por ejemplo, la afinidad o la función efectora.

Como se usa en la presente descripción, el término "anticuerpos humanos", se refiere a los anticuerpos que tienen regiones variables y constantes derivadas de secuencias de inmunoglobulinas de la línea germinal humana. Los anticuerpos humanos pueden incluir residuos de aminoácidos no codificados por las secuencias de inmunoglobulinas de la línea germinal humana (por ejemplo, mutaciones introducidas por mutagénesis aleatoria o específica de sitio in vitro o por mutación somática in vivo). Sin embargo, el término "anticuerpo humano", no incluye anticuerpos en los que las secuencias de CDR derivadas de la línea germinal de otra especie de mamífero, tal como un ratón, se injertaron en las secuencias marco humanas (es decir, anticuerpos humanizados). El término abarca anticuerpos con secuencias derivadas de genes humanos, pero que se han modificados, *por ejemplo*, para disminuir la posible inmunogenicidad, aumentar la afinidad, eliminar cisteínas que podrían causar plegamiento indeseable, etc. El término abarca, además, aquellos anticuerpos que se producen de forma recombinante en células no humanas, que podrían impartir la glicosilación atípica de las células humanas. Para la generación de anticuerpos humanos, véase Méndez y otros, Nature Genetics 15:146-156 (1997), Green y Jakobovits J. Exp. Med. 188:483-495 (1998), Lonberg, Nature Biotechnology, Vol. 23(5): 1117-1125 (2005); Jakobovits, "Therapeutic Antibodies from XenoMouse Transgenic Mice," Capítulo 7, Recombinant Antibodies for Immunotherapy, Cambridge University Press, Nueva York, 2009, Murphy, "VelocImmune: Immunoglobulin Variable Region Humanized Mice," Capítulo 8, Recombinant Antibodies for Immunotherapy, Cambridge University Press, Nueva York, 2009, Murphy y otros, PNAS, 2014, vol. 111(14): 5153-5158, Brüggemann y otros, Arch. Immunol. Ther. Exp., 2015, vol. 63:101-108. Los anticuerpos humanos y los métodos para producirlos se analizan con más detalle en las Patentes de Estados Unidos núms. 5,939,598; 6,673,986; 6,114,598; 6,075,181; 6,162,963; 6,150,584; 6,713,610; 6,657,103; 6,586,251; así como también en las publicaciones de solicitudes de patentes de Estados Unidos US 2006-0015957 A1; y en las publicaciones de patentes internacionales núms. WO 98/24893; y WO 2007/117410.

Como se usa en la presente descripción, el término "modificación de aminoácidos" se refiere a al menos una sustitución, inserción, delección o mutación de aminoácidos en una secuencia de aminoácidos en comparación con una secuencia de aminoácidos de tipo silvestre. Tales modificaciones están dentro de la habilidad ordinaria de un experto. Se ha demostrado que determinadas modificaciones, que incluyen las delecciones, sustituciones y adiciones de aminoácidos, de la región Fc alteran la unión de la región Fc a sus ligandos y/o receptores, lo que resulta en un cambio concomitante en la función efectora (véase, *por ejemplo*, (Shields y otros, J Biol Chem 276:6591-6604 (2001); Presta y otros, Biochem Soc Trans 30:487-490 (2002); Escobar-Cabrera E y otros, Antibodies. 6: 7 (2017); Duncan AR y otros, Nature. 1988; 332: 738-740 (1988); Duncan AR y otros, Nature. 332: 563-564 (1988); Hezareh M y otros, J Virol. 75: 12161-12168 (2001); Oganessian V y otros, Acta Crystallogr D Biol Crystallogr; 64: 700-704 (2008); Schlothauer T y otros, Protein Eng Des Sel. Oct; 29(10):457-466 (2016); Tao MH y otros, J. Immunol. 143: 2595-2601 (1989); Von Kreudenstein TS y otros, MAbs. 5(5):646-654 (2013); Wang X y otros, Protein Cell. 9(1):63-73 (2018); Publicaciones de patentes de Estados Unidos 20040132101; 20070111260; 20110287032; 20180194860; Patente de Estados Unidos núm. US 8409568; Publicación Internacional núm. WO2017/177337. Una delección de aminoácidos se indica como "Δ", y una inserción se indica como "In". Por ejemplo, una delección de la secuencia de aminoácidos de E216 a

E222 se indica como Δ E216-E222. Una inserción de una arginina (R) entre los residuos de aminoácidos 234 y 235, por ejemplo, se indicaría como InR234/235.

5 Tal como se usa en la presente descripción, el término "dominio Fc" se refiere al fragmento cristizable de un anticuerpo después de la digestión con papaína. El dominio Fc comprende dos fragmentos de proteína idénticos derivados de la región bisagra y los dominios constantes segundo y tercero de los isotipos de anticuerpos IgA, IgD e IgG o la región bisagra y los dominios constantes segundo, tercero y cuarto de los isotipos de anticuerpos IgM e IgE. El dominio Fc es la porción de un anticuerpo que se une a los receptores Fc de la superficie celular y a determinadas proteínas del sistema del complemento. El término "región Fc" se refiere al dominio Fc en combinación con una región bisagra. La región bisagra típicamente se encuentra entre el extremo C de un dominio variable y el extremo N del dominio Fc. Aunque los límites de la región Fc pueden variar, la región Fc de la cadena pesada de IgG humana como se define en la presente descripción comprende el residuo E216 hasta su extremo carboxilo del dominio CH3 (o el dominio CH4 para los anticuerpos IgM e IgE), en donde la numeración está en el formato EU como en Edelman GM y otros, (1969) Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85. El "formato EU según lo establecido en Edelman" se refiere a la numeración de residuos del anticuerpo IgG1 EU humano como se describe en Edelman GM y otros, *supra*. La numeración de los residuos de IgG2 humana e IgG4 humana también está en el formato de la EU (véase Dillon TM, y otros, J Biol Chem. Jun 6;283(23):16206-15 (2008); Aalberse RC y Schuurman J y otros, Immunology 105:9-19 (2002); y Scholthauer T y otros, Protein Engineering, Design and Selection, 29(10): 457-466, (2016). Los términos "dominio Fc" y "región Fc" pueden referirse a estas secuencias de forma aislada, o a estas secuencias en el contexto de un anticuerpo, fragmento de anticuerpo o proteína de fusión Fc. Una proteína variante Fc puede ser un anticuerpo, una fusión Fc o cualquier proteína o dominio proteico que comprenda un dominio F o una región Fc. La secuencia de aminoácidos de un dominio Fc o región Fc que no se produce de forma natural (también denominados en la presente descripción "dominio Fc variante" o "región Fc variante", respectivamente) puede comprender una modificación de aminoácidos. Cualquier nuevo residuo de aminoácido que aparezca en la secuencia de un dominio Fc variante o de una región Fc variante como resultado de una inserción o sustitución puede denominarse residuo de aminoácido que no es de origen natural. Los polimorfismos se han observado en un número de posiciones del dominio Fc, que incluyen pero no se limitan a las posiciones 270, 272, 312, 315, 356, y 358, y por tanto pueden existir pequeñas diferencias entre las secuencias presentadas y las secuencias en la técnica previa.

30 Como se usa en la presente descripción, el término "enlazador" se refiere a una secuencia polipeptídica que une dos o más dominios de anticuerpos. Las características de los enlazadores y su idoneidad para propósitos particulares son conocidas en la técnica. Véase, por ejemplo, Chen y otros, Adv Drug Deliv Rev. October 15; 65(10): 1357-1369 (2013) (que describe varios tipos de enlazadores, sus propiedades y herramientas de diseño de enlazadores y bases de datos asociadas). El enlazador puede ser flexible, rígido o escindible *in vivo*. Preferentemente, el enlazador es flexible. Los enlazadores flexibles típicamente comprenden pequeños aminoácidos no polares (*por ejemplo*, Gly) o polares (*por ejemplo*, Ser o Thr). Los enlazadores flexibles más comúnmente usados tienen secuencias que consisten principalmente en tramos de residuos de Gly y Ser (enlazador "GS"). Opcionalmente, los enlazadores flexibles comprenden repeticiones de 5 residuos de Gly y Ser. Los ejemplos no limitantes de enlazadores flexibles incluyen (Gly-Gly-Gly-Gly-Ser)_n (SEQ ID NO: 327), (Ser-Ser-Ser-Ser-Gly)_n (SEQ ID NO: 328), (Gly-Ser-Ser-Gly-Gly)_n (SEQ ID NO: 329), y (Gly-Gly-Ser-Gly-Gly)_n (SEQ ID NO: 330), donde n puede ser cualquier número entero entre 1 y 5. El enlazador tiene, opcionalmente, entre 5 y 25 residuos de aminoácidos de longitud. Pueden seleccionarse otros enlazadores adecuados del grupo que consiste en AS (SEQ ID NO: 214), AST (SEQ ID NO: 215), TVAAPS (SEQ ID NO: 216), TVA (SEQ ID NO: 217), ASTSGPS (SEQ ID NO: 218), KESGSVSSEQLAQFRSLD (SEQ ID NO: 219), EGKSSGSGSESKST (SEQ ID NO: 220), (Gly)₆ (SEQ ID NO: 221), (Gly)₈ (SEQ ID NO: 222), y GSAGSAAGSGEF (SEQ ID NO: 223). En general, un enlazador flexible debe proporcionar buena flexibilidad y solubilidad y puede servir como enlazador pasivo para mantener una distancia entre los dominios funcionales. La longitud de los enlaces flexibles puede ajustarse para permitir un plegamiento adecuado o para lograr una actividad biológica óptima de las proteínas de fusión.

50 Como se usa en la presente descripción, los veinte aminoácidos convencionales y sus abreviaturas siguen el uso convencional. Véase, Immunology--A Synthesis (2da Edición, E. S. Golub y D. R. Gren, Eds., Sinauer Associates, Sunderland, Mass. (1991)).

55 Una "sustitución conservadora de aminoácidos" es aquella en la que un residuo de aminoácido se reemplaza por un residuo de aminoácido diferente con propiedades bioquímicas similares (por ejemplo, carga, hidrofobicidad o tamaño). Típicamente, una sustitución conservadora de aminoácido no cambiará sustancialmente las propiedades funcionales de una proteína. Cuando se comparan las proteínas con sustituciones conservadoras, el por ciento de identidad de secuencia o el grado de similitud puede ajustarse para corregir la naturaleza conservadora de la sustitución. Tales ajustes se conocen bien por los expertos en la técnica. Véase, por ejemplo, Pearson, Methods Mol. Biol. 243:307-31 (1994).

60 Los grupos de aminoácidos con propiedades bioquímicas similares que pueden usarse en las sustituciones conservadoras incluyen 1) residuos de aminoácidos con cadenas laterales alifáticas: glicina, alanina, valina, leucina e isoleucina; 2) residuos de aminoácidos con cadenas laterales hidroxialifáticas: serina y treonina; 3) residuos de aminoácidos con cadenas laterales que contienen amida: asparagina y glutamina; 4) residuos de aminoácidos con cadenas laterales aromáticas fenilalanina, tirosina, y triptófano; 5) residuos de aminoácidos con cadenas laterales

básicas: lisina, arginina, e histidina; 6) residuos de aminoácidos con cadenas laterales ácidas: ácido aspártico y ácido glutámico; y 7) residuos de aminoácidos con cadenas laterales que contienen azufre: cisteína y metionina. Los grupos de sustituciones conservadoras de aminoácidos preferidos incluyen: valina-leucina-isoleucina, fenilalanina-tirosina, lisina-arginina, alanina-valina, glutamato-aspartato y asparagina-glutamina.

Cada cadena pesada comprende un dominio variable de la cadena pesada (VH) y dominios constante de la cadena pesada (CH) múltiples. Para los anticuerpos IgA, IgD e IgG, la cadena pesada típicamente comprende tres dominios: CH1, CH2 y CH3. En el caso de los anticuerpos IgM e IgE, la cadena pesada típicamente comprende cuatro dominios: CH1, CH2, CH3 y CH4. En algunas modalidades, el anticuerpo comprende dos dominios: CH2 y CH3. Cada cadena ligera comprende un dominio variable de cadena ligera (VL) y un dominio constante de cadena ligera. La cadena ligera típicamente comprende un dominio: CL. Los dominios variables de la cadena ligera están codificados por dos segmentos genéticos: un segmento genético variable (V), que codifica los primeros 95-101 aminoácidos de la cadena ligera, y un segmento genético de unión (J), que codifica aproximadamente 12 o más aminoácidos. Los dominios variables de cadena pesada están codificados por tres segmentos genéticos e incluyen un segmento genético de diversidad (D), que codifica aproximadamente 3 o más aminoácidos, entre los segmentos genéticos V y J. Los dominios VH y VL pueden además subdividirse en regiones de hipervariabilidad, denominadas "regiones determinantes de la complementariedad" (CDR), que se separan por "regiones marco" (FR) más conservadas. Cada VH y VL se compone de tres CDR y cuatro FR, dispuestos desde el extremo amino hasta el extremo carboxilo en el siguiente orden: FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3, FR4.

El apareamiento de los dominios variables de la cadena pesada y la cadena ligera (VH y VL) forma el sitio de unión del anticuerpo que interactúa con un antígeno. Por tanto, cada anticuerpo, típicamente tiene dos sitios de unión. Con excepción de los anticuerpos multifuncionales/multiespecíficos (*por ejemplo*, anticuerpos bifuncionales o biespecíficos), los dos sitios de unión son los mismos. Las regiones Fc de las regiones constantes de los anticuerpos típicamente median la unión de los anticuerpos a los tejidos y factores del hospedador, que incluyen varias células del sistema inmunitario (*por ejemplo*, células efectoras) y el primer componente (C1q) del sistema clásico del complemento.

Los residuos en un dominio variable se numeran de acuerdo con Edelman, también conocido como sistema de numeración EU, que es un sistema de numeración usado para dominios variables de cadena pesada o dominios variables de cadena ligera de la compilación de anticuerpos. Véase Edelman Proc Natl Acad Sci U S A. May;63(1):78-85 (1969) y Kabat, E. A., Wu, T. T., Perry, H., Gottesman, K., y Foeller, C. (1991) Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ta ed., NIH Publication No. 91-3242, Bethesda, MD. La numeración EU de residuos puede determinarse para un anticuerpo dado por el alineamiento en regiones de homología de la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada de EU "estándar". Los CDR de región variable (CDR L1, CDR L2, CDR L3, CDR H1, CDR H2, CDR H3) se identifican de acuerdo con el contacto basado en las estructuras cristalinas como se define en Karpusas y otros. Structure. Abr 4;9(4):321-9 (2001) y enumerados de acuerdo con Edelman.

Tal como se usa en la presente descripción, el término "unido operativamente" se refiere a una primera estructura que se ha colocado en una relación funcional con una segunda estructura. En el contexto de un anticuerpo, una estructura de direccionamiento puede unirse operativamente a una estructura que confiere función efectora. Por ejemplo, la secuencia de unión al antígeno de un anticuerpo (*por ejemplo*, región variable o dominio VH o VL) puede unirse operativamente a una región Fc. En el contexto de un polinucleótido, una secuencia codificante puede unirse operativamente a una secuencia reguladora no codificante, tal como un promotor, un potenciador, una secuencia señal, una secuencia de unión a ribosomas, una secuencia aceptora de empalme, una secuencia donante de empalme, una secuencia de terminación, etc. Dos estructuras unidas operativamente pueden estar conectarse directamente. Alternativamente, dos estructuras unidas operativamente pueden conectarse a través de una o más estructuras intermedias. Por ejemplo, la porción de unión al antígeno de un anticuerpo puede unirse operativamente a la región Fc a través de un dominio CH1, una región bisagra y/o una secuencia enlazadora. De manera similar, las secuencias reguladoras no codificantes unidas operativamente incluyen tanto secuencias que son contiguas a la secuencia codificante como secuencias que actúan en *trans* o a distancia para controlar la secuencia codificante.

Tal como se usa en la presente descripción, el término "función efectora" se refiere a las respuestas desencadenadas por la interacción de anticuerpos y complejos anticuerpo-antígeno con células del sistema inmunitario. Estas funciones efectoras típicamente involucran uno de tres mecanismos principales: citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos (ADCC), citotoxicidad dependiente del complemento (CDC) y opsonización y fagocitosis. En la ADCC, los receptores Fc de los linfocitos T citotóxicos, las células asesinas naturales (NK) o los macrófagos se unen a las regiones Fc de los anticuerpos unidos a una célula diana, lo que resulta en la secreción de sustancias, tales como enzimas líticas, perforina, granzimas y factor de necrosis tumoral, que median la destrucción de la célula diana. En el CDC, la muerte celular se induce a través de la activación de la cascada del complemento. Véase Daeron, Annu. Rev. Immunol., 15:203-234 (1997); Ward y Ghetie, Therapeutic Immunol., 2:77-94 (1995); y Ravetch y Kinet, Annu. Rev. Immunol. 9:457-492 (1991)). En la opsonización y la fagocitosis, la región Fc de un anticuerpo unido a un patógeno se une a un receptor Fc en la superficie de un fagocito, lo que induce la fagocitosis. Estas funciones efectoras generalmente requieren que la región Fc se combine con un dominio de unión (*por ejemplo*, un dominio variable de anticuerpo) y puede evaluarse mediante el uso de ensayos estándar que se conocen en la técnica (véase, *por ejemplo*, los documentos WO 05/018572, WO 05/003175, y patente de Estados Unidos núm. 6,242,195). El dominio Fc del anticuerpo media los mecanismos efectoras inmunitarios. Los anticuerpos IgG activan las vías efectoras del sistema

inmunitario mediante la unión a los miembros de la familia de receptores Fcγ de la superficie celular y al C1q del sistema del complemento. La ligazón de proteínas efectoras por anticuerpos agrupados desencadena una variedad de respuestas, que incluye la liberación de citocinas inflamatorias, la regulación de la producción de antígenos, la endocitosis y la muerte celular. Estas respuestas pueden provocar efectos secundarios no deseados tales como inflamación y trombosis. En consecuencia, la presente descripción se refiere además a anticuerpos anti-CD154, con funciones efectoras modificadas, que incluye anticuerpos en los que una o más funciones efectoras se reducen o eliminan. Sin limitarse a la teoría, se cree que los anticuerpos anti-CD 154 descritos en la presente descripción no causan activación o agregación plaquetaria, porque los anticuerpos que comprenden las regiones Fc mutadas no se unen a FcγRIIIa (también conocido como CD32a) en la superficie de las plaquetas.

Como se usa en la presente descripción, el término "funciones efectoras modificadas" se refiere a un dominio Fc o una región Fc cuyas funciones efectoras difieren de las de un dominio Fc o una región Fc de inmunoglobulina de tipo silvestre. En algunas modalidades, se reducen una o más funciones efectoras. Opcionalmente, se eliminan una o más funciones efectoras. Las funciones efectoras modificadas o reducidas pueden ser el resultado de una menor afinidad de unión de la región Fc de los anticuerpos descritos en la presente descripción a las moléculas efectoras (*por ejemplo*, FcγRs y/o C1q). Por ejemplo, los anticuerpos anti-CD154 descritos en la presente descripción tienen una unión al receptor Fc y una activación del complemento reducidas en comparación con los anticuerpos anti-CD154 de tipo silvestre. En algunas modalidades, una región Fc variante tiene una citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC) reducida. La función efectora de un anticuerpo anti-CD 154 puede determinarse mediante el uso de uno de los muchos ensayos conocidos, que incluye el ensayo CDC, el ensayo ADCC y el ensayo de fagocitosis (véase, Xu-Rong Jiang y otros, *Nature Reviews Drug Discovery* 10: 101-111 (2011) y Liu y otros, *The Journal of Biological Chemistry* 292:1876-1883 (2017)). La función efectora de uno o más anticuerpos anti-CD154 puede reducirse al menos en un 10 %, 20 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o 95 % con relación a la función efectora de un anticuerpo anti-CD154 de tipo silvestre.

Como se usan en la presente descripción, los términos "CD154", "ligando de CD40" y "CD40L" pueden usarse indistintamente y se refieren a una proteína de mamífero que se expresa principalmente en las superficies de los linfocitos T activados, una forma soluble de CD154 que se escinde y se libera por los linfocitos T activados, es un miembro de la superfamilia TNF y se une a la proteína CD40 en las células presentadoras de antígenos. El término CD154 pretende incluir CD154 recombinante y formas quiméricas recombinantes de CD154, que pueden prepararse mediante métodos estándar de expresión recombinante. En algunas modalidades, CD154 se refiere a CD154 humano.

Como se usa en la presente descripción, el término "inhibe" se refiere a la propiedad de un anticuerpo, u otra molécula, que previene la interacción de CD154 con CD40 o una que inhibe la unión de CD 154 a CD40, o una que inhibe la escisión o el desprendimiento de CD 154. En algunas modalidades, el anticuerpo inhibe la unión de CD154 a CD40 en al menos aproximadamente un 20 %, preferentemente un 40 %, con mayor preferencia un 60 %, aún con mayor preferencia un 80 % o aún con mayor preferencia un 85 %. Opcionalmente, el anticuerpo inhibe la escisión o el desprendimiento de CD154 en al menos aproximadamente un 20 %, preferentemente un 40 %, con mayor preferencia un 60 %, aún con mayor preferencia un 80 % o aún con mayor preferencia un 85 %. El potencial inhibidor de los anticuerpos anti-CD 154 puede determinarse, por ejemplo, por su capacidad para inhibir la regulación positiva de un gen diana aguas abajo específico de CD40. Por ejemplo, un anticuerpo anti-CD 154 puede alterar la expresión, actividad o activación de quinasas y genes que responden a la señalización CD154-CD40. Un anticuerpo anti-CD154 puede inhibir la regulación positiva de la expresión de CD23, inhibir la regulación positiva de la expresión de CD69, inhibir la regulación positiva y la actividad de la citidina desaminasa inducida por activación (AID), inhibir el rescate de la apoptosis, inhibir la regulación positiva de la actividad de NF-κB, inhibir el cambio de clase de isotipo de inmunoglobulina, inhibir la hipermutación somática de CDR de inmunoglobulina, alterar la expresión o actividad de moléculas dentro de la familia del factor asociado al receptor de TNF (TRAF), tal como TRAF-2, TRAF3 (también conocido como CRAF1), TRAF-5 y TRAF-6, la activar la quinasa o inhibir la expresión de otros genes que responden a la señalización CD154-CD40. Véase, por ejemplo, Lederman, S., y otros. *J. Exp. Med.* 175:1091-1101. (1992); Lederman, S., y otros, *Journal of Immunol.* 149:3817-3826. (1992); Lederman, S., y otros, *Journal of Immunol.* 152:2163. (1994); Cleary, A.M., y otros, *Journal of Immunol.*, 155:3329-3337 (1995); Cheng y otros, *Science*. 267(5203):1494-8 (1995), Bankert KC y otros, *Journal of Immunol.* 194:4319-4327 (2015), Ishida TK y otros, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 93(18):9437-42 (1996). Muramatsu, MK y otros, 2000. *Cell* 102: 553 (2000); Buchta CM y Bishop GA., *Journal of Immunol.* 192(1):145-50. (2014), Arcipowski KM, y otros *International Immunology*. 26(3):149-58 (2014); Mambetsariev N, y otros, *Proc Natl Acad Sci U S A.* 113(4):1032-7 (2016), Arcipowski KM, Bishop GA., *PLoS One*. 7(7) (2012); Bishop GA. *Journal of Immunol.* 91(7):3483-5. (2013); Peters AL y Bishop GA. *Journal of Immunol.* 185(11):6555-62. (2010); Rowland SL, y otros, *Journal of Immunol.* 179(7):4645-53. (2007), Benson RJ, y otros, *European Journal of Immunol.* 6(9):2535-43. (2006).

Como se usa en la presente descripción, el término "respuesta inmunitaria" se refiere a la reacción del sistema inmunitario del cuerpo a la presencia de una sustancia que no se reconoce como un componente del propio cuerpo. Una respuesta inmunitaria puede ser una respuesta inmunitaria humoral, una respuesta inmunitaria mediada por células o una respuesta inmunitaria mixta humoral y mediada por células. Una respuesta humoral puede ser una respuesta mediada por anticuerpos. Una respuesta mediada por células puede ser una o más de una respuesta inmunitaria mediada por linfocitos T citotóxicos, una respuesta mediada por macrófagos, una respuesta inmunitaria mediada por células asesinas naturales (NK) o una respuesta mediada por citocinas. Una respuesta humoral y

mediada por células mixta puede ser una o más de una respuesta mediada por anticuerpos, una respuesta inmunitaria mediada por linfocitos T citotóxicos, una respuesta mediada por macrófagos, una respuesta inmunitaria mediada por células asesinas naturales (NK) o una respuesta mediada por citocinas. La respuesta inmunitaria puede referirse a una respuesta inmunitaria adaptativa y/o innata. Para los distintos tipos de respuestas inmunitarias, véase David Chaplin J Allergy Clin Immunol febrero; 125(2 Supl 2): S3-23 (2010).

Como se usa en la presente descripción, el término "afinidad" de un anticuerpo se refiere a la fuerza de la interacción entre el sitio de unión al antígeno del anticuerpo y un epítipo. La afinidad de un anticuerpo por un antígeno se expresa típicamente como la constante de disociación de equilibrio de afinidad de unión (K_D) de una interacción anticuerpo-antígeno particular. Se dice que un anticuerpo se une específicamente a un antígeno cuando la K_D es ≤ 1 mM, preferentemente ≤ 100 nM. Generalmente se considera que los anticuerpos de alta afinidad tienen una K_D en el intervalo nanomolar bajo (10^{-9}), y generalmente se considera que los anticuerpos de afinidad muy alta tienen una K_D en el intervalo picomolar (10^{-12}). Una constante de afinidad de unión K_D puede medirse mediante resonancia de plasmón de superficie, por ejemplo, mediante el uso del sistema BIAcore® (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Suecia y Piscataway, NJ) como se analiza en el Ejemplo 3. Véase, además, Jonsson y otros, Ann. Biol. Clin. 51:19-26 (1993); Jonsson y otros, Biotechniques 11:620-627 (1991); Jonsson y otros, J. Mol. Recognit. 8:125-131 (1995); Jonsson y otros, Anal. Biochem. 198:268-277 (1991); Hearty S y otros, Methods Mol Biol. 907:411-42 (2012). La K_D puede medirse, además, mediante el uso de un sistema KINEXA® (Sapidyne Instruments, Hanover, Alemania y Boise, ID).

Como se usan en la presente descripción, los términos "ka" o "constante de afinidad" y "kd" o "constante de disociación" se refieren a la cantidad de complejo anticuerpo-antígeno que existe en el punto en el que se alcanza la concentración de equilibrio entre el anticuerpo y el antígeno. K_D es la relación entre kd y ka.

Como se usa en la presente descripción, el término "avidez" se refiere a la fuerza general de un complejo anticuerpo-antígeno. La avidez se relaciona con tres parámetros principales: la afinidad del anticuerpo por el epítipo; la valencia tanto del anticuerpo como del antígeno; y la disposición estructural de las partes que interactúan. Como se usa en la presente descripción, "avidez" describe la mayor afinidad que se produce como resultado de múltiples sitios de unión de antígenos en una inmunoglobulina.

Como se usa en la presente descripción, el término "trasplante" se refiere al proceso de extraer quirúrgicamente una célula, tejido u órgano de un primer organismo (el donante) y colocarlo en un segundo organismo (el receptor). El donante puede ser un organismo humano o no humano. En algunas modalidades, el donante es un primate. El donante puede ser un primate no humano. Opcionalmente, el donante es un humano. En algunas modalidades, el donante es un cerdo o un minicerdo. El receptor puede ser un organismo humano o no humano. Preferentemente, el receptor es un humano. Opcionalmente, el receptor es un primate no humano. La célula, tejido u órgano que se transfiere se denomina "trasplante" o "injerto". Un "xenotrasplante" se refiere a la transferencia de una célula, tejido u órgano de un donante de una determinada especie (tal como un mono o un cerdo) a un receptor de una especie diferente (como un ser humano).

Como se usa en la presente descripción, el término "célula modificada genéticamente" se refiere a una célula que se modifica a partir de su estado natural. Una célula modificada genéticamente puede modificarse mediante el uso de una o más técnicas, tales como la transducción para expresar un ADNc, un sistema CRISPR/Cas9, tecnología de ARNi y tecnología retroviral. Por ejemplo, la célula puede modificarse para expresar un receptor de antígeno quimérico (CAR) sobre su superficie. Los ejemplos de células que pueden trasplantarse incluyen, pero no se limitan a, una célula madre, un linfocito T regulador (Treg), una célula CAR-T (véase, Zhang, C y otros, Biomarker Research (5)22. (2017), a CAR-B cell (Voss JE y otros, Elife. enero 17;8. (2019), y un linfocito infiltrante de tumores (TIL) (Zhang L y otros, Clin Cancer Res. mayo 15;21(10):2278-88. doi: 10.1158/1078-0432.CCR-14-2085 (2015).

Como se usa en la presente descripción, el término "célula expandida ex vivo" se refiere a una célula que se produce en un método ex vivo para mejorar el rendimiento de esa célula (tal como una célula madre hematopoyética (HSC)) para usarse en aplicaciones clínicas, tal como el trasplante. Véase, *por ejemplo*, Xie J, y Zhang C Sci China Life Sci. Sep;58(9):839-53 (2015) que revisa los métodos para expandir el número de HSC, que incluye los sistemas de cultivo tales como el cocultivo de estroma/HSC, la perfusión continua y los cultivos en lotes alimentados, y aquellos suplementados con ligandos extrínsecos, factores de transcripción transportables por membrana, componentes del complemento, enzimas de modificación de proteínas, metabolitos o productos químicos de moléculas pequeñas. La célula deseada que va a trasplantarse puede además expandirse ex vivo mediante la aplicación de activadores endógenos de señalización Notch (véase, *por ejemplo*, Ex vivo expansion of human hematopoietic stem and progenitor cells Dahlberg A, y otros, Blood 117:6083-6090 (2011).

Como se usa en la presente descripción, el término "rechazo de trasplante" se refiere al fenómeno que ocurre cuando una célula, tejido u órgano trasplantado de un donante es rechazado por el sistema inmunitario del receptor. El sistema inmunitario del receptor puede generar una respuesta inmunitaria adaptativa (inmunidad celular) mediada por linfocitos T asesinos que inducen la apoptosis de las células del donante, una inmunidad humoral mediada por linfocitos B activados que secretan anticuerpos y/o una respuesta inmunitaria innata mediada por fagocitos y proteínas inmunitarias solubles (véase, Ochanda J y otros, Cell Mol Immunol. Apr;16(4):350-356 (2019); Koo J, y Wang HL. Surg

Como se usa en la presente descripción, el término "quimerismo hematopoyético" se refiere a la coexistencia de células hematopoyéticas tanto del hospedador como del donante que surge debido al injerto de células madre hematopoyéticas pluripotentes del donante en el hospedador. Las células hospedadoras y donantes pueden ser tolerantes entre sí. Los mecanismos del quimerismo hematopoyético se conocen en la técnica. Véase Pasquet L, y otros Front Immunol. 2:80 (2011) y Nikolic B, y Sykes M, Immunol Res. 16(3):217-28. (1997). En algunas modalidades, tal quimerismo hematopoyético resulta en "tolerancia central". Los mecanismos de "tolerancia central" en tales quimeras pueden implicar la delección central clonal intratímica, la selección de células T reguladoras y/u otros mecanismos inmunitarios relacionados. Véase, *por ejemplo*, Nikolic B, y Sykes M, Immunol Res. 16(3):217-28. (1997) y Hogquist KA y otros, Nature Reviews Immunology 5:772-782 (2005). En algunas modalidades, las células madre hematopoyéticas se aíslan o purifican. Opcionalmente, las células madre hematopoyéticas son células pasajeras que se trasplantan con un órgano, *por ejemplo*, un trasplante de riñón o hígado. Las células madre pueden derivarse de la médula ósea o de las células grasas/tejido adiposo del donante.

Como se usa en la presente descripción, el término "acondicionamiento" o "condicionado" se refiere a la preparación de un receptor para un trasplante de células madre, tal como un trasplante de células hematopoyéticas. Gyurkocza Band Sandmaier BM Blood 124:344-353 (2014) proporciona una revisión de los regímenes de acondicionamiento de dosis alta, intensidad reducida y no mieloablativos y los agentes más comúnmente usados, tales como la irradiación corporal total, el fosfato de fludarabina, la ciclofosfamida, los anticuerpos que eliminan los linfocitos T y la ciclosporina A (CsA). Los anticuerpos monoclonales, tales como los Ac anti-CD20, Ac anti-CD33 y Ac anti-CD45, también pueden usarse solos o en combinación con terapias convencionales como parte de un régimen de acondicionamiento para prevenir el rechazo de trasplante. Véase, *por ejemplo*, Topcuoglu P y otros; Progress in Stem Cell Transplantation; diciembre (2015). Otros agentes que pueden usarse en regímenes de acondicionamiento incluyen, pero no se limita a inhibidores de BCL-2 (Perini GF y otros, Journal of Hematology & Oncology 11:65 (2018) y anticuerpos anti-CTLA4 (Pree I y otros, Transplantation. Mar 15; 83(5): 663-667 (2007). Los regímenes de acondicionamiento pueden incluir agentes quimioterapéuticos que incluyen, pero no se limitan a alemtuzumab (CAMPATH™), busulfán, carboplatino, carmustina, ciclofosfamida, citarabina (Ara-C), daunorrubicina, etopósido (VP-16), fludarabina, melfalán, rituximab y vincristina.

El término "anticuerpo aislado" se refiere a un anticuerpo que está al menos parcialmente libre de las otras moléculas biológicas presentes en las células que se usan para producirlo. Las otras moléculas biológicas de las que está libre un anticuerpo aislado incluyen moléculas de ácido nucleico, proteínas, lípidos, carbohidratos, restos celulares y medio de cultivo. El término "anticuerpo aislado" no requiere, pero sí abarca, la ausencia completa de otras moléculas biológicas. El término "anticuerpo aislado" tampoco se refiere a la ausencia completa de otras moléculas, tales como agua, tampones, sales o componentes de formulaciones farmacéuticas. Por tanto, una molécula sintetizada químicamente o sintetizada en un sistema libre de células quedará "aislada" de sus componentes naturalmente asociados. Una molécula también puede "aislarse" mediante el uso de técnicas de purificación bien conocidas en la técnica.

Como se usa en la presente descripción, los términos "ácido nucleico", "molécula de ácido nucleico" y "polinucleótido" se usan indistintamente y se refieren a una forma polimérica de nucleótidos de al menos 10 bases de longitud. Los polinucleótidos pueden comprender ribonucleótidos, desoxinucleótidos, formas modificadas de cualquier tipo de nucleótido o una de sus combinaciones. Un polinucleótido puede ser monocatenario o bicatenario.

Como se usa en la presente descripción, el término "polinucleótido aislado" o "molécula de ácido nucleico aislado" como se usa en la presente descripción significa un polinucleótido de origen genómico, ARNm, ADNc o sintético o alguna de sus combinaciones, que (1) no se asocia con todo o con una parte del polinucleótido con el que el "ácido nucleico aislado" se asocia en la naturaleza, (2) se une operativamente a un polinucleótido al que no se une en la naturaleza, o (3) no ocurre en la naturaleza como parte de una secuencia más grande. Un polinucleótido aislado "que comprende" una secuencia específica puede incluir, además, secuencias codificantes para otras proteínas o cadenas de inmunoglobulina, secuencias reguladoras de la expresión o secuencias de los vectores.

La pureza o homogeneidad de una molécula puede evaluarse mediante diversos medios bien conocidos en la técnica. Por ejemplo, la pureza de una muestra de anticuerpo puede analizarse mediante el uso de electroforesis en gel de poliacrilamida y tinción del gel para visualizar el anticuerpo mediante el uso de técnicas bien conocidas en la técnica. Para determinados propósitos, puede proporcionarse una resolución más alta mediante el uso de HPLC u otros medios bien conocidos en la técnica para la purificación. La pureza de una muestra de ácido nucleico puede analizarse mediante el uso de la absorbancia espectrofotométrica de la muestra de 260 nm a 280 nm mediante el uso de técnicas bien conocidas en la técnica. Para determinados propósitos, puede proporcionarse una resolución más alta mediante el uso de medios bien conocidos en la técnica para la purificación.

Los ejemplos de anticuerpos aislados incluyen, pero no se limita a un anticuerpo anti-CD 154 que se ha purificado por afinidad mediante el uso de CD154 y un anticuerpo anti-CD 154 que se ha sintetizado por una línea celular *in vitro*.

El término "vector", como se usa en la presente descripción, se refiere a una construcción, que es capaz de suministrar y, preferentemente, expresar, una o más secuencias polinucleotídicas de interés en una célula hospedadora. Los ejemplos no limitantes de vectores incluyen vectores virales, vectores de expresión de ADN o ARN desnudo, vectores

bacterianos, vectores de mamíferos, plásmidos, cósmidos, vectores de fagos, vectores de expresión de ADN o ARN asociados con agentes de condensación catiónica, vectores de expresión de ADN o ARN encapsulados en liposomas, y determinadas células eucariotas, tales como las células productoras. En algunas modalidades, los vectores se replican de forma autónoma en una célula hospedadora en la que se introdujeron. Opcionalmente, los vectores se integran en el genoma de una célula hospedadora y se replican junto con el genoma del hospedador. Los vectores pueden ser capaces de dirigir la expresión de secuencias codificantes a los que se unen operativamente. Tales vectores son denominados en la presente descripción como "vectores de expresión recombinante" o "vectores de expresión".

El término "célula hospedadora", como se usa en la presente descripción, se refiere a una célula en la que se ha introducido un vector o un polinucleótido. Debe entenderse que "célula hospedadora" incluye no sólo la célula en cuestión sino también la progenie de dicha célula. Debido a que determinadas modificaciones pueden producirse en generaciones posteriores ya sea debido a una mutación o influencias ambientales, tal progenie puede no ser, de hecho, idéntica a la célula progenitora, pero todavía se incluyen dentro del alcance del término "célula hospedadora" como se usa en la presente descripción, siempre y cuando ellas contengan el vector, polinucleótido, o una porción de estos, ya sea de forma episómica o integrada en el genoma de la célula hospedadora.

El término "por ciento de identidad de secuencia" en el contexto de secuencias de polinucleótidos (o polipeptídicas) se define como el por ciento de residuos de ácidos nucleicos (o aminoácidos) en una secuencia candidata que son idénticos con los ácidos nucleicos (o residuos de aminoácidos) en la secuencia de nucleótidos (o polipeptídica) de referencia, después de alinear las secuencias e introducir interrupciones, si necesario, para lograr el por ciento máximo de identidad de secuencia, y sin considerar cualquiera de las sustituciones conservadoras como parte de la identidad de secuencia. Tales sustituciones conservadoras se consideran (además de los residuos idénticos) al calcular el "por ciento de similitud de secuencia" de dos secuencias. Las posiciones de los residuos que no son idénticos pero son similares se diferencian por sustituciones de aminoácidos conservadoras.

La alineación con el propósito de determinar el por ciento de identidad de secuencia de aminoácidos, similitud de secuencia u homología de secuencia, tal como entre una proteína de tipo silvestre y una muteína de esta, puede lograrse de varias maneras que están dentro de la habilidad en la técnica, por ejemplo, mediante el uso de un programa informático de análisis de secuencias disponible públicamente como BLAST, BLAST-2, ALIGN, Megalign (DNASTAR), Gap, BESTFIT®, y otros programas en Wisconsin Package versión 10.0 o Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin.software. Los expertos en la técnica pueden determinar los parámetros adecuados para alinear las secuencias, que incluyen cualquiera de los algoritmos necesarios para lograr el alineamiento máximo sobre la longitud completa de las secuencias que se comparan. Las secuencias de polipéptidos pueden compararse, además, mediante el uso de FASTA que usa parámetros predeterminados o recomendados. En el contexto de las secuencias de polipéptidos, FASTA toma la secuencia de aminoácidos de consulta y busca en una base de datos de secuencias mediante el uso de la alineación de secuencias local para identificar secuencias similares dentro de la base de datos (Pearson, *Methods Enzymol.* 183:63-98 (1990); Pearson, *Methods Mol. Biol.* 132: 185-219 (2000); Pearson *Curr Protoc Bioinformatics*. Mar 24;53:3.9.1-25 (2016)). BLAST, especialmente blastp o tblastn, que usa parámetros predeterminados, puede usarse para comparar una secuencia de consulta con una base de datos que contiene secuencias de diferentes organismos. Véase, *por ejemplo*, Altschul y otros, *J. Mol. Biol.* 215:403-410 (1990); Altschul y otros, *Nucleic Acids Res.* 25:3389-402 (1997); Eser y otros, *PLoS One.* 22;9(12): e115445 (2014).

Una referencia en la presente descripción a una secuencia de nucleótidos abarca su complementaria a menos que se especifique de cualquier otra forma. Por lo tanto, una referencia a un ácido nucleico que tiene una secuencia particular debe entenderse como que abarca su hebra complementaria, con su secuencia complementaria.

Los términos "paciente", "sujeto" e "individuo" se usan indistintamente en la presente descripción y se refieren a un ser humano o a un animal no humano que necesita tratamiento. Estos términos incluyen mamíferos, tales como los humanos, y primates (*por ejemplo*, mono). Opcionalmente, el sujeto es un humano. En algunas modalidades, el sujeto necesita inhibición o reducción de una respuesta inmunitaria.

El término "primate" se refiere a un mamífero del orden de los primates, que incluye a los antropoides y prosimios, caracterizado por un desarrollo refinado de las manos y los pies, un hocico acortado y un cerebro grande. El orden de mamíferos Primates incluye a los humanos, los simios, los monos y los prosimios o primates inferiores.

Como se usa en la presente descripción, el término "cantidad con eficacia terapéutica" se refiere a esa cantidad del agente terapéutico que se administra, que aliviará en cierta medida uno o más de los síntomas de la afección que se trata. Con respecto al tratamiento del rechazo de trasplantes, una cantidad con eficacia terapéutica se refiere a esa cantidad que tiene al menos uno de los siguientes efectos: reduce, inhibe o previene el rechazo agudo o crónico de la célula, tejido u órgano trasplantado y uno o más síntomas asociados con el rechazo, prolonga la supervivencia del injerto, reduce la trombosis, reduce el riesgo de infecciones potencialmente mortales, cánceres y otras complicaciones, tales como enfermedades cardiovasculares e insuficiencia renal. Véase, *Por ejemplo*, Romano y otros *Front Immunol.* 10:43 (2019) y Ingulli E. *Pediatr Nephrol.* 25(1):61-74 (2010) para los mecanismos de rechazo celular en el trasplante. Con respecto al tratamiento de enfermedades autoinmunitarias y enfermedades inflamatorias mediadas por anticuerpos, una cantidad con eficacia terapéutica se refiere a aquella cantidad que tiene al menos uno de los

siguientes efectos: reduce uno o más síntomas asociados con la enfermedad autoinmunitaria, tales como fatiga, dolores musculares, fiebre baja, inflamación, erupciones cutáneas, etc.

Las composiciones farmacéuticas pueden incluir una cantidad con eficacia terapéutica o una cantidad con eficacia profiláctica de un anticuerpo descrito en la presente descripción. Una cantidad con eficacia terapéutica del anticuerpo puede variar de acuerdo con factores tales como el estado de la enfermedad, edad, sexo, y peso del individuo, y la capacidad del anticuerpo o porción de anticuerpo para inducir una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad con eficacia terapéutica es, además, una en la que cualquiera de los efectos tóxicos o perjudiciales del anticuerpo se pondera por los efectos terapéuticamente beneficiosos. Es habitual en la técnica que el experto en la técnica determine una cantidad con eficacia terapéutica de un anticuerpo descrito en la presente descripción basándose en estos factores. Una "cantidad con eficacia profiláctica" se refiere a una cantidad efectiva, en dosis y durante períodos de tiempo necesario, para lograr el resultado profiláctico deseado. Típicamente, dado que una dosis profiláctica se usa en los sujetos antes del trasplante o en una etapa más temprana del rechazo de trasplante, la cantidad con eficacia profiláctica será menor que la cantidad con eficacia terapéutica.

Como se usan en la presente descripción, los términos "tratar", "tratando" y "tratamiento" se refieren a la administración de un agente terapéutico, tal como una composición que contiene cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente descripción, interna o externamente a un sujeto o paciente que tiene uno o más síntomas de enfermedad, o se sospecha que tiene una enfermedad, para la cual el agente tiene actividad terapéutica. "Tratar", "que trata" y "tratamiento" se refieren a tratamientos terapéuticos y/o tratamientos profilácticos. El tratamiento terapéutico incluye, *por ejemplo*, un método para aliviar o reducir la gravedad de una afección o abolir una afección e incluye aliviar o reducir la gravedad de uno o más síntomas de la afección. Si el tratamiento se administra antes de la manifestación clínica de una afección, el tratamiento se considera profiláctico. El alivio o la reducción de un síntoma de una enfermedad puede evaluarse mediante cualquier medición clínica que típicamente usan los médicos u otros profesionales expertos para evaluar la gravedad o la progresión de ese síntoma. Los términos se refieren además a un aplazamiento del desarrollo de uno o más síntomas de la enfermedad y/o a una reducción de la gravedad de uno o más síntomas de la enfermedad. Los términos incluyen, además, la mejora de síntomas de enfermedades existentes no controladas o no deseadas, la prevención de síntomas de enfermedades adicionales y la mejora o prevención de las causas subyacentes de tales síntomas de enfermedades. Por tanto, los términos denotan que se ha conferido un resultado beneficioso al sujeto.

Con respecto al tratamiento del rechazo de trasplante, el tratamiento puede referirse al alivio, reducción o retraso del rechazo de la célula, tejido u órgano trasplantado o de uno o más síntomas asociados con el rechazo. El tratamiento, además, puede prolongar la supervivencia del injerto, reducir la trombosis y/o reducir el riesgo de infecciones potencialmente mortales, cánceres y otras complicaciones, tales como enfermedades cardiovasculares e insuficiencia renal. Con respecto al tratamiento de las enfermedades autoinmunitarias, el tratamiento puede referirse a la atenuación de las respuestas inmunitarias del cuerpo y al control de la reacción autoinmunitaria. Con respecto al tratamiento de la enfermedad inflamatoria mediada por anticuerpos, el tratamiento puede referirse a la reducción de uno o más síntomas asociados con la enfermedad autoinmunitaria, tales como fatiga, dolores musculares, fiebre baja, inflamación, erupciones cutáneas, etc. Con respecto al tratamiento con los anticuerpos descritos en la presente descripción, estos términos pueden significar simplemente que la expectativa de vida y la calidad de vida de un individuo que recibe un trasplante o de un individuo afectado por una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria aumentarán o que uno o más de los síntomas asociados con el rechazo de trasplante o la enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria se reducirán.

Como se usa en la presente descripción, los términos "prevenir", "que previene" y "prevención" se refieren a la prevención o el retraso de la recurrencia o el comienzo de, o una reducción en uno o más síntomas de una afección en un sujeto como resultado de la administración de un anticuerpo anti-CD 154 de la descripción. Por ejemplo, en el contexto de la administración de una terapia a un sujeto, "prevenir", "que previene" y "prevención" se refieren a la inhibición, reducción o retraso en el desarrollo o comienzo del rechazo de ese trasplante o trombosis asociada o la prevención o retraso de la recurrencia, comienzo o desarrollo de uno o más síntomas asociados con el trasplante en un sujeto (*por ejemplo*, un trasplante de órgano sólido) o la administración de una combinación de terapias (*por ejemplo*, una combinación de un trasplante de órgano sólido y un inmunosupresor).

Como se usa en la presente descripción, los términos "administrar" o "administración de" los anticuerpos o composiciones de esta descripción a un sujeto se refieren a poner en contacto los anticuerpos o composiciones con el sujeto o con una célula, tejido, órgano o fluido biológico del sujeto. Tal administración puede realizarse mediante el uso de uno de una variedad de métodos conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, un anticuerpo o una composición de esta descripción puede administrarse sistémica o localmente. En algunas modalidades, la composición puede administrarse por las vías subcutánea, intravenosa, intravítrea, oral, por inhalación, transdérmica o rectal. La administración puede realizarse además, por ejemplo, una vez, varias veces y/o durante uno o más períodos prolongados. En algunas modalidades, la administración incluye tanto la administración directa (que incluye la autoadministración) como la administración indirecta, que incluye el acto de prescribir un medicamento.

Como se usa en la presente descripción, el término "condiciones altamente rigurosas" se refiere a la hibridación con ADN unido a filtro en cloruro de sodio/citrato de sodio (SSC) 0,1x a 65 °C, seguido de uno o más lavados en SSC 0,1x,

SDS al 0,1 % a 50-65 °C. (Ausubel y otros, eds., 1989, Current Protocols in Molecular Biology, Vol. I, Green Publishing Associates, Inc., y John Wiley & Sons, Inc., N.Y., en p. 2.10.3).

Anticuerpos anti-CD154

5

Un primer aspecto de la presente descripción proporciona anticuerpos anti-CD154 aislados con funciones efectoras modificadas que se unen al CD154 de mamífero, con mayor preferencia al CD154 humano. En algunas modalidades, se reducen una o más funciones efectoras. Opcionalmente, se eliminan una o más funciones efectoras. En algunas modalidades, los anticuerpos con una o más funciones efectoras reducidas demuestran una unión reducida a los receptores Fc con relación a un anticuerpo que tiene una cadena pesada de IgG1 de tipo silvestre. Opcionalmente, la unión reducida al receptor Fc es de 10 a 3200 veces más débil que la unión demostrada por una cadena pesada de IgG de tipo silvestre. En algunas modalidades, la K_D para la unión de FcγRIIA, el dominio Fc del anticuerpo con función efectora reducida está entre 0,1-100 nM, tal como por ejemplo 0,3-92 nM. Opcionalmente, la K_D para la unión de CD16aF, el dominio Fc del anticuerpo con una o más funciones efectoras reducidas es mayor a 2 μM. En algunas modalidades, la K_D para la unión de CD16aV, el dominio Fc del anticuerpo con una o más funciones efectoras reducidas es mayor a 0,4 μM. Opcionalmente, la K_D para la unión de CD32aH, el dominio Fc del anticuerpo con una o más funciones efectoras reducidas es mayor a 0,5 μM. En algunas modalidades, la K_D para la unión de CD32bF, el dominio Fc del anticuerpo con una o más funciones efectoras reducidas es mayor a 1 μM.

20

En algunas modalidades, los anticuerpos aislados son anticuerpos monoclonales completamente humanos. En algunas modalidades, los anticuerpos aislados son anticuerpos quiméricos. En algunas modalidades, los anticuerpos aislados son anticuerpos humanizados. En algunas modalidades, los anticuerpos anti-CD 154 humanos se producen mediante la inmunización a un animal transgénico no humano, *por ejemplo*, un roedor, cuyo genoma comprende genes de inmunoglobulina humana, de manera que el animal transgénico produce anticuerpos humanos.

25

En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD 154 comprende una región variable humana o humanizada, en donde la región variable comprende un dominio variable de cadena pesada (VH) y un dominio variable de cadena ligera (VL), y en donde el VH se une operativamente a un dominio Fc humano con funciones efectoras modificadas. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una o más funciones efectoras del dominio Fc humano que se están reduciendo. Opcionalmente, se eliminan una o más funciones efectoras del dominio Fc humano. Opcionalmente, el VH se une operativamente a una región Fc humana, en donde la región Fc humana comprende una secuencia de bisagra humana y el dominio Fc humano, en donde la secuencia de bisagra humana está entre el VH y el dominio Fc humano. Una o más funciones efectoras de la región Fc humana pueden estar reducidas. Opcionalmente, se eliminan una o más funciones efectoras de la región Fc humana. La bisagra puede comprender la secuencia de aminoácidos de cualquiera de las SEQ ID NO: 76-90. En algunas modalidades, la bisagra comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 76. Opcionalmente, la bisagra comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 77. La bisagra puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 78. En algunas modalidades, la bisagra comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 79. Opcionalmente, la bisagra comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 80. La bisagra puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 81. En algunas modalidades, la bisagra comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 82. Opcionalmente, la bisagra comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 83. La bisagra puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 84. En algunas modalidades, la bisagra comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 85. Opcionalmente, la bisagra comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 86. La bisagra puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 87. En algunas modalidades, la bisagra comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 88. Opcionalmente, la bisagra comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 89. La bisagra puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 90.

50

El dominio Fc humano puede derivarse de una región Fc (o fragmento cristalizante) de IgG4. En algunas modalidades, el dominio Fc se deriva de una región constante de IgG4. La región Fc humana se deriva de una región Fc (o fragmento cristalizante) de IgG4. La región Fc humana puede derivarse de una región constante de IgG4.

55

En algunas modalidades, la presente descripción se refiere a (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) que el dominio Fc del anticuerpo comprende una o más modificaciones de aminoácidos que modifican funciones efectoras, que incluye la reducción o eliminación de una o más funciones efectoras. La presente descripción se refiere (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a dominios Fc que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18 y 238-241. La presente descripción se refiere a (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) dominios Fc que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18 y 238-241. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a dominios Fc que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 3-9, 12-18 y 238-241. La presente descripción se refiere (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a dominios Fc que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18 y 238-241.

65

% idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18 y 236-241. La presente descripción se refiere a (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) dominios Fc que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18 y 236-241.

5 En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14. En algunas modalidades, el dominio Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 241. En algunas modalidades, el dominio Fc no comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 236. Opcionalmente, el dominio Fc no comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 237. En algunas modalidades, el dominio Fc no comprende la

10 secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 236 y 237.

En algunas modalidades, la región Fc del anticuerpo de un anticuerpo descrito en la presente descripción comprende una o más modificaciones de aminoácidos que modifican funciones efectoras, que incluye la reducción o eliminación de una o más funciones efectoras. La presente descripción se refiere (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a regiones Fc que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 243-251. La presente descripción se refiere (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a regiones Fc que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 243-251. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a regiones Fc que comprenden una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 243-251. La presente descripción se refiere (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a regiones Fc que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 242-251. La presente descripción se refiere (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a regiones Fc que comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 242-251. La región Fc puede comprender una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 23 o 42. En algunas modalidades, la región Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 23. En algunas modalidades, la región Fc comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 42. En algunas modalidades, el dominio Fc no comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 236. Opcionalmente, el dominio Fc no comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 237. En algunas modalidades, el dominio Fc no comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 242. Opcionalmente, el dominio Fc no comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 236, 237 y 242.

15

20

25

30

35

En algunas modalidades, el anticuerpo que comprende el dominio Fc derivado de IgG4 o la región Fc comprende una modificación de aminoácidos en cualquiera de las posiciones seleccionadas del grupo que consiste en S228, L235, L236, G237, E318 y N297 o una de sus combinaciones, en donde la numeración de los residuos de aminoácidos es de acuerdo con el índice EU como se establece en Edelman GM y otros, Proc. Natl. Acad. USA, 63, 78-85 (1969). En un caso, el anticuerpo que comprende el dominio Fc o la región Fc derivados de IgG4 comprende una modificación de aminoácido seleccionada del grupo que consiste en S228P, L235A, L235E, L236E, G237A, E318A y N297Q o una de sus combinaciones. Véase, por ejemplo, la Figura 9c.

40

En algunas modalidades, la VH comprende (a) una CDR1 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 57, (b) una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58, y (c) una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 59; y la VL comprende (a) una CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60, (b) una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 61, y (c) una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62.

45

50

En algunos ejemplos, la VH puede comprender una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 63, 64, 252 o 253. Opcionalmente, la VH comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 63, 64, 252 o 253. La VH puede comprender la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 63, 64, 252 o 253. En algunos ejemplos, la VH puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 63. En algunas modalidades, la VH comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64. Opcionalmente, la VH comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 252. Opcionalmente, la VH comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 253. Opcionalmente, la VH no comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 233.

55

60

En algunos ejemplos, la VL puede comprender una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 65 o 66. Opcionalmente, las VL comprenden una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 65 o 66. La VL puede comprender la secuencia

65

de aminoácidos de la SEQ ID NO: 65 o 66. En algunos ejemplos, la VL puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 65. En algunas modalidades, la VL comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66.

5 En algunos ejemplos, el anticuerpo puede comprender además un dominio CH1, en donde el dominio CH1 se une operativamente a (a) el extremo C de VH, y (b) el extremo N de la bisagra. Opcionalmente, el dominio CH1 comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 67, 70 y 73. El dominio CH1 puede comprender una secuencia de aminoácidos que sea al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 67, 70 y 73. Opcionalmente, el dominio CH1 comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 67, 70 y 73. El dominio CH1 puede comprender la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 67. Opcionalmente, el dominio CH1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 70. Opcionalmente, el dominio CH1 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 73.

15 En algunos ejemplos, el anticuerpo puede comprender además un enlazador entre la VH y el dominio Fc. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 199-223 y 327-330. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 199-223. El enlazador puede comprender la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 327-330. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 199. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 200. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 201. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 202. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 203. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 204. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 205. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 206. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 207. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 208. En algunas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 209. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 210. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 211. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 212. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 213. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 214. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 215. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 216. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 217. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 218. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 219. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 220. En algunas modalidades, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 221. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 222. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 223. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 327. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 328. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 329. Opcionalmente, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 330. El enlazador puede estar entre la VH y la bisagra. El enlazador puede estar entre la VH y el dominio CH1.

45 La presente descripción se refiere a (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una VH que se une operativamente a una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18, 21-37, 40-56, 238-241 y 243-251. La presente descripción se refiere a (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una VH que se une operativamente a una secuencia de aminoácidos que es al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18, 21-37, 40-56, 238-241 y 243-251. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a una VH que se une operativamente a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18, 21-37, 40-56, 238-241 y 243-251. Opcionalmente, la VH se une operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 3. Opcionalmente, la VH se une operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 4. La VH puede unirse operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 5. Opcionalmente, la VH se une operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 6. Opcionalmente, la VH se une operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 7. La VH puede unirse operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 8. Opcionalmente, la VH se une operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 9. Opcionalmente, la VH se une operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 12. La VH puede unirse operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13. Opcionalmente, la VH se une operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14. Opcionalmente, la VH se une operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15. La VH puede unirse operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16. Opcionalmente, la VH se une operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17. Opcionalmente, la VH se une operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18. La VH puede unirse operativamente a la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 21. Opcionalmente, la VH se une operativamente a la secuencia de

refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 121-132, 135-146, 149, 151-160, 163, 165-174 y 266-288. La presente descripción se refiere a (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 121-132, 135-146, 149, 151-160, 163, 165-174 y 266-288. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 121-132, 135-146, 149, 151-160, 163, 165-174 y 266-288. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 121-132, 135-146, 149, 151-160, 163, 165-174, 266-277 y 279-288. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 121-132, 135-146, 149, 151-160, 163, 165-174, 266-277 y 279-288. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 121-132, 135-146, 149, 151-160, 163, 165-174, 266-277 y 279-288. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 121-132, 135-146, 149, 151-160, 163, 165-174, 267-271, 273-277 y 279-288. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 121-132, 135-146, 149, 151-160, 163, 165-174, 267-271, 273-277 y 279-288. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a una cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 121-132, 135-146, 149, 151-160, 163, 165-174, 267-271, 273-277 y 279-288. En algunas modalidades, la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 151. En algunas modalidades, la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 165. Opcionalmente, la cadena pesada no comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 150. Opcionalmente, la cadena pesada no comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 164. Opcionalmente, la cadena pesada no comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 150 y 164. Opcionalmente, la cadena pesada no comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 234. Opcionalmente, la cadena pesada no comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 266. Opcionalmente, la cadena pesada no comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 272. Opcionalmente, la cadena pesada no comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 278. Opcionalmente, la cadena pesada no comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 234 y 278. Opcionalmente, la cadena pesada no comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 234, 266, 272 y 278. Opcionalmente, la cadena pesada no comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 150, 164, 234 y 278. Opcionalmente, la cadena pesada no comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 150, 164, 234, 266, 272 y 278.

La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 195 y 196. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 195 y 196. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 195 o 196. En algunas modalidades, la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 196.

En algunos ejemplos, el anticuerpo puede ser monoclonal. Opcionalmente, el anticuerpo es un anticuerpo quimérico. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo humanizado. En algunas modalidades, el anticuerpo es un anticuerpo humano.

En algunos ejemplos, la unión del anticuerpo al CD154 humano puede inhibir la interacción entre el CD154 humano y el CD40 humano. Opcionalmente, el anticuerpo bloquea la activación de uno o más linfocitos B, macrófagos, células dendríticas o células endoteliales al inhibir la unión de CD154 a CD40. En algunas modalidades, se observa un nivel reducido de trombosis después de la administración del anticuerpo en comparación con el nivel de trombosis después de la administración del anticuerpo 5c8 o hu5c8. Opcionalmente, el anticuerpo no causa trombosis cuando se administra a un sujeto.

En algunos ejemplos, el anticuerpo descrito en la presente descripción puede tener uno o más de los siguientes efectos cuando se administra a un sujeto: (a) disminución del riesgo de trombosis o eventos tromboembólicos en comparación con el anticuerpo hu5c8; (b) disminución de la activación de plaquetas que expresan CD154; (c) inhibición del desprendimiento de CD154; y (d) alteración de la expresión o actividad de las dianas aguas abajo de la señalización CD154-CD40. Opcionalmente, la administración del anticuerpo resulta en un menor riesgo de trombosis o eventos tromboembólicos, en comparación con un sujeto al que se le ha administrado un anticuerpo 5c8 o hu5c8. En algunos ejemplos, la administración del anticuerpo puede resultar en una disminución de la activación de las plaquetas que expresan CD154. Opcionalmente, la administración del anticuerpo resulta en la inhibición del desprendimiento de CD154. En algunos ejemplos, la administración del anticuerpo puede provocar la alteración de la expresión de la actividad de las dianas aguas arriba de la señalización CD154-CD40.

Opcionalmente, el dominio Fc humano con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en una cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 2, 10, 11, 231 y 236. Opcionalmente, el dominio Fc humano con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 1. Opcionalmente, el dominio Fc humano con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 2. Opcionalmente, el dominio Fc humano con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 10. Opcionalmente, el dominio Fc humano con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 11. Opcionalmente, el dominio Fc humano con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 231. Opcionalmente, el dominio Fc humano con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 236. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en una cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 2, 10, 11, 231 y 236. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 1. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 2. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 10. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 11. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 231. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 236.

Opcionalmente, la región Fc humana con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en una cualquiera de las SEQ ID NO: 19, 20, 38, 39, 232 y 235. Opcionalmente, la región Fc humana con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 19. Opcionalmente, la región Fc humana con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 20. Opcionalmente, la región Fc humana con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 20. Opcionalmente, la región Fc humana con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 38. Opcionalmente, la región Fc humana con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 39. Opcionalmente, la región Fc humana con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 232. Opcionalmente, la región Fc humana con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 235. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en una cualquiera de las SEQ ID NO: 19, 20, 38, 39, 232 y 235. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 19. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 20. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 20. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 38. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 39. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 232. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 235.

Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en una cualquiera de las SEQ ID NO: 119, 120, 133, 134, 147, 148, 150, 161, 162, 164, 230, 234 y 278. Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 119. Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 120. Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 133. Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 134. Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 147. Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 148. Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 150. Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 161. Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 162. Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 164. Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 230. Opcionalmente, la cadena pesada con

funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 234. Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 278. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en una cualquiera de las SEQ ID NO: 119, 120, 133, 134, 147, 148, 150, 161, 162, 164, 230, 234 y 278.

5 Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 119. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 120. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 133. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 134. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 147.

10 Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 148. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 161. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 162. En algunas modalidades, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 164. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 230. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 234. Opcionalmente, la cadena pesada con funciones efectoras modificadas no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en la SEQ ID NO: 278. Opcionalmente, el anticuerpo no comprende la secuencia de aminoácidos que consiste en una cualquiera de las SEQ ID NO: 1, 2, 10, 11, 19, 20, 38, 39, 119, 120, 133, 134, 147, 148, 150, 161, 162, 164, 230, 231, 232, 234, 235, 236, y 278.

20 Propiedades de los anticuerpos anti-CD154

Afinidad de unión de los anticuerpos anti-CD154 al CD154

25 La afinidad de enlace (K_D) y la velocidad de disociación (k_{dis}) de un anticuerpo anti-CD 154 contra CD154 puede determinarse mediante métodos conocidos en la técnica. La afinidad de unión puede medirse mediante ELISA, RIA, citometría de flujo o resonancia de plasmón de superficie (SPR), tal como con el sistema BIACORE®. La velocidad de disociación puede medirse mediante SPR. Opcionalmente, la afinidad de unión y la velocidad de disociación se miden mediante SPR. En algunos ejemplos, la afinidad de unión y la velocidad de disociación pueden medirse mediante el uso del BIACORE®. El experto en la técnica puede determinar si un anticuerpo descrito en la presente descripción tiene sustancialmente la misma K_D que otro anticuerpo anti-CD154 mediante el uso de métodos conocidos en la técnica. Estos métodos para determinar K_D y k_{dis} pueden usarse durante la etapa de selección inicial, así como también durante las etapas subsecuentes de optimización. En algunos ejemplos, el anticuerpo puede tener una K_D para CD154 de menos de 50 pM. Opcionalmente, el anticuerpo tiene una K_D para CD154 de menos de 25 pM. Opcionalmente, el anticuerpo tiene una K_D para CD154 de 5-25 pM. Opcionalmente, el anticuerpo tiene una K_D para CD154 de 9,5-23 pM.

30

35

Inhibición de la actividad del CD154 mediante el anticuerpo anti-CD154

40 Los anticuerpos anti-CD154 que inhiben la unión de CD154 a CD40 pueden identificarse mediante el uso de cualquiera de varios ensayos, *por ejemplo*, ensayos de unión competitiva, análisis FACS, ensayos de activación de linfocitos B, ensayos de proliferación de linfocitos B, ensayos de activación de linfocitos T, ensayos de proliferación de linfocitos T. Véase, *por ejemplo*, Barr y otros, Immunology, 102(1):39-43 (2001); y Blair y otros, J. Exp. Med., 191(4):651-660 (2001). Por ejemplo, los anticuerpos neutralizantes anti-CD154 pueden identificarse por su inhibición de la regulación positiva de un gen diana específico de CD154, tal como CD23, CD44H, CD54, TRAF-3 y NFκB. Opcionalmente, los anticuerpos anti-CD154 tienen una IC_{50} de no más de 500 nM, 300 nM, 200 nM, 150 nM, 100 nM, 50 nM, 20 nM, 10 nM o 1 nM.

45

Función efectora: análisis de plaquetas

50 La función efectora del anti-CD 154 puede identificarse mediante el uso de uno cualquiera de varios ensayos, *por ejemplo*, ensayos de activación y/o agregación plaquetaria *in vitro*. Véase, *por ejemplo*, la patente de Estados Unidos núm. 9,765,150; Langer F y otros, Thromb Haemost. Jun;93(6):1137-46 (2005); McKenzie, S.E. y otros, J Immunol 162 (7) 4311-4318 (1999); y Scholthauer T y otros, Protein Engineering, Design and Selection, 29(10): 457-466, (2016).

55 La sangre de donantes humanos o de ratones que expresan FcγRIIA (CD32a) en las plaquetas puede usarse para analizar la función plaquetaria. La activación plaquetaria puede detectarse por citometría de flujo mediante el uso de anticuerpos contra los marcadores de activación plaquetaria P-selectina (CD62P) y PAC-1 (GPIIb/IIIa activado). El análisis de agregación plaquetaria puede analizarse mediante el uso de un dispositivo de impedancia de miceladas y cuantificando el área bajo la curva como medida de la curva de impedancia de agregación plaquetaria.

60

Ácidos nucleicos, vectores. Células hospedadoras y métodos recombinantes para producir anticuerpos

Ácidos nucleicos

65 Un segundo aspecto de la presente descripción proporciona moléculas de ácido nucleico que codifican los anticuerpos anti-CD 154 descritos en la presente descripción. En algunas modalidades, moléculas de ácido nucleico separadas

codifican una cadena pesada y una cadena ligera de una inmunoglobulina anti-CD 154. En otras modalidades, la misma molécula de ácido nucleico codifica tanto una cadena pesada como una cadena ligera de una inmunoglobulina anti-CD 154.

- 5 En algunas modalidades, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia que codifica la VL de un anticuerpo anti-CD 154 descrito en la presente descripción.

En algunas modalidades, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la secuencia de aminoácidos que comprende una VL de la SEQ ID NO: 66. En algunas modalidades, la molécula de ácido nucleico comprende la secuencia de nucleótidos que codifica una VL que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66 o una porción de esta. En algunas modalidades, el ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de una, dos o las tres CDR de cadena ligera de dicho anticuerpo. En algunas modalidades, dicha porción codifica una región contigua de CDR1-CDR3 de la cadena ligera de un anticuerpo anti-CD154.

15 La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de VL de la SEQ ID NO: 65 o 66. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica una VL que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a la secuencia de aminoácidos de VL de la SEQ ID NO: 65 o 66. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a moléculas de ácido nucleico que incluyen secuencias de nucleótidos que se hibridan en condiciones altamente rigurosas con el complemento de un ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de la región VL de la SEQ ID NO: 65 o 66.

25 En algunas modalidades, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia que codifica la VH de un anticuerpo anti-CD154 descrito en la presente descripción.

30 En algunas modalidades, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64. En algunas modalidades, la molécula de ácido nucleico comprende la secuencia de nucleótidos que codifica una VH que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64 o una porción de esta. En algunas modalidades, el ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de una, dos o las tres CDR de cadena pesada de dicho anticuerpo. En algunas modalidades, dicha porción codifica una región contigua de CDR1-CDR3 de la cadena pesada de un anticuerpo anti-CD154.

35 La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la secuencia de aminoácidos de VH de las SEQ ID NO: 63, 64, 252 o 253. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica una VH que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a la secuencia de aminoácidos de VH de las SEQ ID NO: 63, 64, 252 o 253. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a moléculas de ácido nucleico que incluyen secuencias de nucleótidos que se hibridan en condiciones altamente rigurosas con el complemento de un ácido nucleico que codifica la secuencia de aminoácidos de la región VH de las SEQ ID NO: 63, 64, 252 o 253.

45 En algunas modalidades, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia que codifica el dominio Fc de un anticuerpo anti-CD154 descrito en la presente descripción.

50 La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de una de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18 y 236-241. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica un dominio Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NOS: 3-9, 12-18 y 236-241 o una porción de estas.

55 La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica un dominio Fc que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18 y 238-241. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica un dominio Fc que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18 y 238-241. La presente descripción se refiere a (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) moléculas de ácido nucleico que incluyen secuencias de nucleótidos que se hibridan en condiciones altamente rigurosas con el complemento de un ácido nucleico que

codifica una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18 y 238-241 o con el complemento de un ácido nucleico que comprende la porción de la región Fc de la secuencia de nucleótidos de la cadena pesada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 177-179, 192-194, 289, 291-297 y 316, 318-324. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica un dominio Fc que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18 y 236-241. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica un dominio Fc que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18 y 236-241. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) moléculas de ácido nucleico que incluyen secuencias de nucleótidos que se hibridan en condiciones altamente rigurosas con el complemento de un ácido nucleico que codifica una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18 y 236-241 o con el complemento de un ácido nucleico que comprende la porción de la región Fc de la secuencia de nucleótidos de la cadena pesada de una cualquiera de las SEQ ID NO: 177-179, 192-194, 289-297 y 316-324. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica un dominio Fc que comprende la secuencia de nucleótidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a la porción de la región Fc de cualquiera de las SEQ ID NO: 177-179, 192-194, 289-297 y 316-324. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica un dominio Fc que comprende la secuencia de nucleótidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a la porción de la región Fc de una cualquiera de las SEQ ID NO: 177-179, 192-194, 289-297 y 316-324. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica un dominio Fc que comprende la secuencia de nucleótidos de la porción de la región Fc de una cualquiera de las SEQ ID NO: 177-179, 192-194, 289-297 y 316-324.

En algunas modalidades, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia que codifica la región Fc de un anticuerpo anti-CD 154 descrito en la presente descripción.

La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una región Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18, 21-37, 40-56, 238-241 y 243-251. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica una región Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18, 21-37, 40-56, 238-241 y 243-251 o una porción de estas. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una región Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18, 21-37, 40-56 y 236-251. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica una región Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18, 21-37, 40-56 y 236-251 o una porción de estas. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una región Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 243-251. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica una región Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 243-251 o una porción de estas. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a una molécula de ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una región Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 242-251. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que comprende la secuencia de nucleótidos que codifica una región Fc que comprende la secuencia de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 242-251 o una porción de estas.

La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica una región Fc que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18, 21-37, 40-56, 238-241 y 243-251. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica una región Fc que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18, 21-37, 40-56, 238-241 y 243-251. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a moléculas de ácido nucleico que incluyen secuencias de nucleótidos que se hibridan en

condiciones altamente rigurosas con el complemento de un ácido nucleico que codifica una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18, 21-37, 40-56, 238-241 y 243-251. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica una región Fc que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18, 21-37, 40-56 y 236-251. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica una región Fc que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18, 21-37, 40-56 y 236-251. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a moléculas de ácido nucleico que incluyen secuencias de nucleótidos que se hibridan en condiciones altamente estrictas con el complemento de un ácido nucleico que codifica una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 3-9, 12-18, 21-37, 40-56 y 236-251. La presente descripción se refiere a (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica una región Fc que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 243-251. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica una región Fc que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 243-251. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a moléculas de ácido nucleico que incluyen secuencias de nucleótidos que se hibridan en condiciones altamente rigurosas con el complemento de un ácido nucleico que codifica una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 243-251. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica una región Fc que comprende una secuencia de aminoácidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 242-251. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a moléculas de ácido nucleico que incluyen secuencias de nucleótidos que se hibridan en condiciones altamente rigurosas con el complemento de un ácido nucleico que codifica una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 21-37, 40-56 y 242-251.

En algunas modalidades, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia que codifica la cadena ligera de un anticuerpo anti-CD 154 descrito en la presente descripción. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a una molécula de ácido nucleico que codifica la cadena ligera que comprende una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en la SEQ ID NO: 197 y 198. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica la cadena ligera que comprende una secuencia de nucleótidos que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 197 y 198. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a una molécula de ácido nucleico que codifica la cadena ligera que comprende una secuencia de nucleótidos que se hibrida en condiciones altamente rigurosas con el complemento de una secuencia de nucleótidos seleccionada del grupo que consiste en las SEQ ID NO: 197 y 198.

En algunas modalidades, la molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 196. En algunas modalidades, la molécula de ácido nucleico comprende la secuencia de nucleótidos que codifica una cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 196 o una porción de esta.

La presente descripción se refiere a (aunque no todo es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 195 y 196. La presente descripción se refiere a (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) una molécula de ácido nucleico que codifica una secuencia de aminoácidos de cadena ligera que es al menos 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 97 %, 98 % o 99 % similar a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 195 y 196. La presente descripción se refiere (aunque no toda es parte de la invención reivindicada que se define en las reivindicaciones) a moléculas de ácido nucleico que incluyen secuencias de nucleótidos que se hibridan en condiciones altamente rigurosas con el complemento de un ácido nucleico que codifica una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de la cadena ligera de una cualquiera de las SEQ ID NO: 195 y 196 o con el complemento

192-194, 289-297 y 316-324. Opcionalmente, la molécula de ácido nucleico que codifica una cadena pesada comprende la secuencia de nucleótidos de una cualquiera de las SEQ ID NO: 177-179, 192-194, 289-297 y 316-324.

5 Una molécula de ácido nucleico que codifica la cadena pesada o la cadena ligera de un anticuerpo anti-CD 154 puede aislarse de cualquier fuente que produzca dicho anticuerpo. En diversas modalidades, las moléculas de ácido nucleico se aíslan de un linfocito B que expresa un anticuerpo anti-CD154 aislado de un animal inmunizado con CD154 o de una célula inmortalizada derivada de dicho linfocito B. Los métodos para aislar ácidos nucleicos que codifican un anticuerpo se conocen bien en la técnica. Véase, por ejemplo, Sambrook J. & Russell D., Molecular Cloning: A Laboratory Manual 3ra ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000). En otra modalidad, el ácido nucleico se aísla de un animal no humano y no transgénico. Las moléculas de ácido nucleico aisladas de un animal no humano y no transgénico pueden usarse, *por ejemplo*, para anticuerpos humanizados que comprenden una o más secuencias de aminoácidos de un anticuerpo anti-CD 154 humano descrito en la presente descripción.

15 Vectores

Un tercer aspecto de la presente descripción proporciona vectores que comprenden las moléculas de ácido nucleico descritas. En algunas modalidades, el vector comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada de un anticuerpo anti-CD154 descrito. Opcionalmente, el vector comprende una secuencia de nucleótidos que codifica la cadena ligera de un anticuerpo descrito. El vector puede comprender una secuencia de nucleótidos que codifica la cadena pesada y la cadena ligera de un anticuerpo anti-CD 154 descrito.

Opcionalmente, los anticuerpos anti-CD154 se expresan mediante la inserción del ADN que codifica cadenas ligeras y/o pesadas de longitud parcial o completa, que se obtienen como se describió anteriormente, en vectores de expresión de manera que los genes estén unidos operativamente a secuencias de control de la expresión, tales como secuencias de control transcripcional y traduccional. Los ADN que codifican cadenas ligeras y/o pesadas parciales pueden contener secuencias de VH y/o VL. Los vectores de expresión incluyen plásmidos, retrovirus, adenovirus, virus adenoasociados (AAV), virus de plantas, tal como el virus del mosaico de la coliflor, virus del mosaico del tabaco, cósmidos, YAC, episomas derivados de EBV, y similares. El polinucleótido que codifican la cadena pesadas y/o ligera pueden ligarse en un vector de manera que las secuencias de control de la transcripción y la traducción dentro del vector cumplan su función pretendida de regular la transcripción y la traducción del polinucleótido. El vector de expresión y las secuencias de control de la expresión pueden elegirse para ser compatibles con la célula hospedadora de expresión que se usa. El gen de la cadena ligera del anticuerpo y el gen de la cadena pesada del anticuerpo pueden insertarse en vectores separados. En algunas modalidades, ambos genes se insertan en el mismo vector de expresión. En algunas modalidades, los polinucleótidos que codifican secuencias de VH y/o VL se insertan en un vector de expresión que comprende secuencias de nucleótidos de CH y/o CL. Opcionalmente, los polinucleótidos que codifican la secuencia de VH se insertan en un vector de expresión que comprende una secuencia de nucleótidos del dominio Fc. Opcionalmente, los polinucleótidos que codifican la secuencia de VH se insertan en un vector de expresión que comprende una secuencia de nucleótidos de la región Fc. Los polinucleótidos que codifican la cadena pesada y/o ligera se insertan en el vector de expresión mediante métodos estándar (por ejemplo, ligazón de los sitios de restricción complementarios en el fragmento del gen de anticuerpo y el vector, o ligazón de extremo romo si no hay sitios de restricción presentes).

Un vector adecuado puede ser uno que codifica una secuencia de inmunoglobulina CH o CL funcionalmente completa, con sitios de restricción apropiados que se modifican genéticamente de manera que cualquier secuencia de nucleótido VH o VL puede insertarse fácilmente en 5' de la secuencia de nucleótidos CH o CL y expresarse, como se describió anteriormente. En tales vectores, normalmente el empalme se produce entre el sitio donador del empalme en la región J insertada y el sitio aceptor del empalme que precede el dominio C, y además en las regiones de empalme que se producen dentro de los exones CH. Opcionalmente, el vector codifica un dominio Fc con funciones efectoras modificadas con sitios de restricción apropiados modificados genéticamente de manera que una secuencia de nucleótidos VH pueda insertarse fácilmente en el 5' de la secuencia de nucleótidos del dominio Fc y expresarse. Opcionalmente, el vector comprende una secuencia que codifica un enlazador que está 5' con respecto a la secuencia que codifica el dominio Fc con sitios de restricción apropiados modificados genéticamente de manera que una secuencia de nucleótidos VH pueda insertarse fácilmente en el 5' de la secuencia del enlazador y expresarse. Opcionalmente, el vector codifica una región Fc con funciones efectoras modificadas con sitios de restricción apropiados modificados genéticamente de manera que una secuencia de nucleótidos VH pueda insertarse fácilmente en el 5' de la secuencia de nucleótidos de la región Fc y expresarse. Opcionalmente, el vector comprende una secuencia que codifica un enlazador que está 5' con respecto a la secuencia que codifica la región Fc con sitios de restricción apropiados modificados genéticamente de manera que una secuencia de nucleótidos VH pueda insertarse fácilmente en el 5' de la secuencia de polinucleótido del enlazador y expresarse. Opcionalmente, el vector comprende una secuencia que codifica un dominio CH1 que está 5' con respecto a la secuencia que codifica la región Fc con sitios de restricción apropiados modificados genéticamente de manera que una secuencia de nucleótidos VH pueda insertarse fácilmente en 5' de la secuencia de polinucleótidos del dominio CH1 y expresarse.

Opcionalmente, el vector comprende una secuencia de poliadenilación y/o terminación de la transcripción aguas abajo de las regiones codificantes. Un vector de expresión recombinante puede codificar, además, un péptido señal que facilita la secreción de una cadena de anticuerpo de una célula hospedadora. El gen de la cadena del anticuerpo

puede clonarse en el vector de manera que el péptido señal se enlaza en marco al extremo amino de la cadena de inmunoglobulina. Opcionalmente, el péptido señal es un péptido señal de inmunoglobulina o un péptido señal heterólogo (es decir, un péptido señal de una proteína que no es inmunoglobulina).

5 Además de las secuencias codificantes de las cadenas de anticuerpos, los vectores de expresión recombinantes pueden, opcionalmente, portar secuencias reguladoras que controlan la expresión de las secuencias codificantes de las cadenas de anticuerpos en una célula hospedadora. Se apreciará por los expertos en la técnica que el diseño del vector de expresión, que incluye la selección de secuencias reguladoras puede depender de tales factores como la elección de la célula hospedadora a transformar, el nivel de expresión de proteína deseada, y similares. Las
10 secuencias reguladoras preferidas para la expresión en células hospedadoras de mamíferos incluyen elementos virales que aseguran altos niveles de expresión de proteína en células de mamíferos, tales como promotores y/o potenciadores derivados de repeticiones terminales largas de retrovirus (LTR), citomegalovirus (CMV) (tal como el promotor/potenciador de CMV), virus del simio 40 (SV40) (tal como el promotor/potenciador de SV40), adenovirus, (por ejemplo, el promotor tardío principal de adenovirus (AdMLP)), poliovirus y promotores fuertes de mamíferos tales
15 como promotores naturales de inmunoglobulina y actina. Para una descripción más detallada de los elementos reguladores virales y secuencias de estos, véase *por ejemplo*, la Patente de Estados Unidos núm. 5,168,062, Patente de Estados Unidos núm. 4,510,245 y Patente de Estados Unidos núm. 4,968,615. Los métodos para expresar anticuerpos en plantas, que incluye una descripción de promotores y vectores, así como también transformación de plantas se conocen en la técnica. Véase, *por ejemplo*, la patente de Estados Unidos Núm. 6,517,529. Los métodos
20 para expresar polipéptidos en células bacterianas o fúngicas, *por ejemplo*, células de levadura, también se conocen bien en la técnica.

Además de las secuencias codificantes de las cadenas de anticuerpos y las reguladoras, los vectores de expresión recombinantes descritos en la presente descripción pueden portar secuencias adicionales, tales como las secuencias
25 que regulan la replicación del vector en células hospedadoras (por ejemplo, orígenes de la replicación) y genes de marcador de selección. Opcionalmente, el vector comprende un gen marcador de selección para facilitar la selección de las células hospedadoras en las que el vector se ha introducido (véase, *por ejemplo*, las Patentes de Estados Unidos núms. 4,399,216, 4,634,665 y 5,179,017). Por ejemplo, el gen marcador de selección puede conferir resistencia a fármacos, tales como Geneticina (G418), higromicina o metotrexato, en una célula hospedadora en la que el vector se ha introducido. Por ejemplo, los genes del marcador de selección incluyen el gen de la dihidrofolato reductasa (DHFR) (para su usar en células hospedadoras deficientes en DHFR para la selección/amplificación con metotrexato), el gen de resistencia a la neomicina (neo) (para la selección con G418), y el gen de la glutamato sintetasa.

35 Células hospedadoras y métodos de producción de proteínas recombinantes

Cualquiera de las moléculas de ácido nucleico que codifican anticuerpos anti-CD 154 descritas en la presente descripción y los vectores que comprenden estas moléculas de ácido nucleico pueden usarse para la transfección de una célula hospedadora adecuada de mamífero, planta o levadura o para la transformación de una célula hospedadora
40 bacteriana. Los métodos para transfectar/transformar una célula hospedadora con un polinucleótido se conocen bien en la técnica. Por ejemplo, los métodos para introducir los polinucleótidos heterólogos en las células de mamífero se conocen bien en la técnica e incluyen, sin limitación, la transfección mediada por dextrano, precipitación con fosfato de calcio, transfección mediada por polibreno, fusión de protoplastos, electroporación, encapsulación del polinucleótido(s) en liposomas, y microinyección directa del ADN en los núcleos. Además, las moléculas de ácido nucleico pueden introducirse en las células de mamífero mediante vectores virales. Los métodos para transformar las células se conocen bien en la técnica. Véase, *por ejemplo*, las patentes de Estados Unidos núms. 4,399,216, 4,912,040, 4,740,461, y 4,959,455. Los métodos de transformación de las células vegetales se conocen bien en la técnica, que incluyen, *por ejemplo*, la transformación mediada por *Agrobacterium*, transformación biolística, inyección directa, electroporación y transformación viral. Los métodos para transformar las células bacterianas y de levaduras se conocen bien en la técnica.

Las líneas celulares de mamíferos disponibles como hospedadoras para la expresión se conocen bien en la técnica e incluyen una pluralidad de líneas celulares inmortalizadas disponibles en la Colección Americana de Tipos de Cultivo (ATCC). Los ejemplos no limitantes incluyen, entre otras, las células de ovario de hámster chino (CHO), células NS0, células SP2, células HEK-293T, células FreeStyle 293 (Invitrogen), células NIH-3T3, células HeLa, células de riñón de hámster bebé (BHK), células de riñón de mono verde africano (COS), células de carcinoma hepatocelular humano (por ejemplo, Hep G2), células A549, y un número de otras líneas celulares. Otras líneas celulares que pueden usarse son las líneas celulares de insectos, tales como células Sf9 o Sf21. Las células hospedadoras vegetales incluyen, *por ejemplo*, *Nicotiana*, *Arabidopsis*, lenteja, maíz, trigo, papa, etc. Las células hospedadoras bacterianas incluyen especies de *E. coli* y *Streptomyces*. Las células hospedadoras de levadura incluyen *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia pastoris*. Está dentro de las competencias de la técnica seleccionar líneas celulares basándose en características particulares, tales como el nivel de expresión y el patrón de glicosilación. Cuando los vectores de expresión recombinante que codifican las cadenas de los anticuerpos se introducen en las células hospedadoras de mamífero, los anticuerpos se producen mediante el cultivo de las células hospedadoras durante un período de tiempo suficiente para permitir la expresión del anticuerpo en las células hospedadoras o, con mayor preferencia, la secreción del anticuerpo al medio de cultivo en el que se cultivan las células hospedadoras. Los
65

anticuerpos pueden recuperarse del medio de cultivo o de la célula hospedadora mediante el uso de métodos estándar de purificación de proteínas.

5 Además, la expresión de los anticuerpos descritos de las líneas celulares de producción puede potenciarse mediante el uso de un número de técnicas conocidas. Por ejemplo, el sistema de expresión genético de la glutamina sintetasa (el sistema GS) es un enfoque común para potenciar la expresión bajo determinadas condiciones. Véase, *por ejemplo*, Patentes europeas núm. 0216846, 0256055, 0323997 y 0338841.

10 Los anticuerpos expresados por diferentes líneas celulares o en animales transgénicos pueden tener diferentes patrones de glicosilación. Los anticuerpos descritos en la presente descripción pueden expresarse mediante cualquier línea celular hospedadora adecuada y, por lo tanto, pueden tener cualquier patrón de glicosilación.

Composiciones farmacéuticas y administración

15 Un cuarto aspecto de la presente descripción proporciona una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-CD154 descrito en la presente descripción y un portador farmacéuticamente aceptable. En algunas modalidades, la composición farmacéutica comprende una cantidad con eficacia terapéutica del anticuerpo anti-CD 154 descrito en la presente descripción.

20 Los anticuerpos descritos en la presente descripción pueden incorporarse en composiciones farmacéuticas adecuadas para su administración a un sujeto. Típicamente, la composición farmacéutica comprende un anticuerpo descrito en la presente descripción y un portador farmacéuticamente aceptable. Como se usa en la presente descripción, "portador farmacéuticamente aceptable" y "excipiente farmacéuticamente aceptable" se usan indistintamente y se refieren a cualquiera y todos los solventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos o que retardan la absorción, y similares que son fisiológicamente compatibles. Los portadores farmacéuticamente aceptables se conocen bien en la técnica. Véase, *por ejemplo*, Remington's Pharmaceutical Sciences y U.S. Pharmacopeia: National Formulary, Mack Publishing Company, Easton, PA (1984). Algunos ejemplos de portadores farmacéuticamente aceptables son agua, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, dextrosa, glicerina, etanol, y similares, así como también sus combinaciones. En muchos casos, será preferible incluir en la composición agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro de sodio. Los ejemplos adicionales de sustancias farmacéuticamente aceptables son agentes humectantes o cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o agentes emulsificantes, conservantes o tampones, que mejoran la vida en estante o la eficacia del anticuerpo. Las composiciones farmacéuticas pueden prepararse mezclando un anticuerpo descrito en la presente descripción con portadores, excipientes o estabilizadores aceptables en forma de, por ejemplo, polvos liofilizados, suspensiones, soluciones o suspensiones acuosas, (véase, por ejemplo, Hardman, y otros, (2001) Goodman y Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, McGraw-Hill, Nueva York, NY; Gennaro (2000) Remington: The Science and Practice of Pharmacy, Lippincott, Williams, y Wilkins, Nueva York, NY; Avis, y otros, (eds.) (1993) Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Marcel Dekker, NY; Lieberman, y otros, (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets, Marcel Dekker, NY; Lieberman, y otros, (eds.) (1990) Pharmaceutical Dosage Forms: Disperse Systems, Marcel Dekker, NY; Weiner y Kotkoskie (2000) Excipient Toxicity and Safety, Marcel Dekker, Inc., Nueva York, NY.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en una variedad de formas, por ejemplo, formas de dosificación líquidas, semisólidas y sólidas, tales como soluciones líquidas (por ejemplo, soluciones inyectables e infundibles), dispersiones o suspensiones, comprimidos, píldoras, polvos, liposomas y supositorios. La forma preferida depende del modo pretendido de administración y aplicación terapéutica. Opcionalmente, las composiciones farmacéuticas están en forma de soluciones inyectables o infusibles, tales como composiciones similares a las usadas para la inmunización pasiva de humanos. Opcionalmente, el modo de administración es parenteral (por ejemplo, intravenoso, subcutáneo, intraperitoneal, intramuscular). Opcionalmente, el modo de administración es inyección intravítrea. La composición farmacéutica puede administrarse mediante infusión o inyección intravenosa. Opcionalmente, el anticuerpo se administra mediante inyección intramuscular o subcutánea. Las formulaciones para inyección pueden presentarse en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, en ampollas, jeringuillas precargadas o en contenedores de dosis múltiples, con o sin la adición de un conservante. Las composiciones farmacéuticas pueden tomar formas como suspensiones, soluciones o emulsiones en vehículos oleosos o acuosos, y pueden contener agentes de formulación tales como agentes de suspensión, estabilizantes y/o dispersantes. Alternativamente, el ingrediente activo puede prepararse en forma de polvo para su reconstitución antes de usar, con un vehículo adecuado, por ejemplo, agua estéril libre de pirógenos.

Las composiciones terapéuticas típicamente deben ser estériles y estables bajo las condiciones de fabricación y almacenamiento. La composición puede formularse como una solución, microemulsión, dispersión, liposoma, u otra estructura ordenada adecuada para una alta concentración del fármaco. Las soluciones inyectables estériles pueden prepararse mediante la incorporación del anticuerpo anti-CD 154 en la cantidad requerida en un solvente adecuado con uno o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según se requiera, seguido por la esterilización con filtración. Las dispersiones pueden prepararse mediante la incorporación del anticuerpo anti-CD 154 en un vehículo estéril que contiene un medio de dispersión básico y los otros ingredientes requeridos de los enumerados anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los

métodos de preparación preferidos incluyen el secado al vacío y la liofilización que producen un polvo del anticuerpo anti-CD 154 y cualquier ingrediente adicional deseado de una solución estéril previamente filtrada de este. La fluidez adecuada de una solución puede mantenerse, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento tal como lecitina, mediante el mantenimiento del tamaño de partícula requerido en el caso de la dispersión y/o mediante el uso de surfactantes. La absorción prolongada de composiciones inyectables puede producirse por la inclusión en la composición de un agente que retarda la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

Las composiciones farmacéuticas pueden administrarse mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica. Opcionalmente, la vía/modo de administración preferido es la infusión subcutánea, intramuscular o intravenosa. Opcionalmente, el modo de administración es intravítrea. Como se apreciará por el experto, la vía y/o modo de administración variará en dependencia de los resultados deseados.

En algunos ejemplos, la composición farmacéutica puede prepararse con un portador que protegerá el anticuerpo contra la liberación rápida, tal como una formulación de liberación controlada, que incluye los implantes, parches transdérmicos y sistemas de suministro microencapsulados. Pueden usarse polímeros biodegradables, biocompatibles, tales como acetato de etilvinilo, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres y ácido poliláctico. Los métodos para la preparación de tales formulaciones generalmente son conocidos por los expertos en la técnica. Véase, *por ejemplo*, Sustained and Controlled Release Drug Delivery Systems J. R. Robinson, ed., Marcel Dekker, Inc., Nueva York, 1978.

Los compuestos activos adicionales pueden incorporarse también en las composiciones. Opcionalmente, un anticuerpo anti-CD 154 descrito en la presente descripción se coformula y/o coadministra con uno o más agentes terapéuticos adicionales. Estos agentes incluyen, sin limitación, anticuerpos que se unen a otras dianas, fármacos antitrombóticos, fármacos antiplaquetarios, fármacos antiinflamatorios no esteroides (NSAID) y fármacos antialérgicos. Tales terapias de combinación pueden necesitar dosificaciones más bajas del anticuerpo anti-CD 154, así como también de los agentes coadministrados, de esta manera se evitan posibles toxicidades o complicaciones asociadas con varias monoterapias.

Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta óptima deseada (por ejemplo, una respuesta terapéutica o profiláctica). Por ejemplo, un único bolo puede administrarse, varias dosis divididas pueden administrarse en el tiempo o la dosis puede reducirse o aumentarse proporcionalmente como se indica por las exigencias de la situación terapéutica. Puede ser ventajoso formular las composiciones parenterales en forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. El término "forma de dosificación unitaria" como se usa en la presente descripción se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificación unitarias para los sujetos mamíferos a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada del compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el portador farmacéutico requerido. La especificación para las formas de dosificación unitarias pueden dictarse en dependencia de (a) las características únicas del anticuerpo anti-CD 154 y el efecto profiláctico o terapéutico particular a lograr, y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de los compuestos tal anticuerpo para el tratamiento de la sensibilidad en los individuos.

Un intervalo ilustrativo, no limitante para una cantidad con eficacia terapéutica o profiláctica de un anticuerpo descrito en la presente descripción es de 5 a 50 mg/kg. La cantidad con eficacia terapéutica o profiláctica de un anticuerpo descrito en la presente descripción puede ser de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 mg/kg. Opcionalmente, una cantidad con eficacia terapéutica o profiláctica de un anticuerpo descrito en la presente descripción es de 5 a 30 mg/kg. La cantidad con eficacia terapéutica o profiláctica de un anticuerpo descrito en la presente descripción puede ser de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 mg/kg. Opcionalmente, la cantidad con eficacia terapéutica o profiláctica de un anticuerpo descrito en la presente descripción es 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg o 50 mg/kg. Opcionalmente, la cantidad con eficacia terapéutica o profiláctica de un anticuerpo descrito en la presente descripción es de aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 25 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 35 mg/kg, aproximadamente 40 mg/kg, aproximadamente 45 mg/kg o aproximadamente 50 mg/kg. Los valores de dosificación pueden variar con el tipo y gravedad de la afección a aliviar. Para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos pueden ajustarse en el tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones y que los intervalos de dosificación expuestos en la presente descripción son únicamente ilustrativos y no se pretende que limiten el alcance o la práctica de la composición reivindicada.

Métodos terapéuticos de uso

Un quinto aspecto de la presente descripción proporciona un método para inhibir la actividad de CD154. En algunos ejemplos, la actividad de CD154 puede inhibirse poniendo en contacto CD154 con un anticuerpo anti-CD154 descrito en la presente descripción. Opcionalmente, se inhibe CD154 mediante la administración de un anticuerpo anti-CD154 descrito en la presente descripción a un sujeto que lo necesite. Opcionalmente, se administra una cantidad con eficacia terapéutica del anticuerpo anti-CD 154. Opcionalmente, el anti-CD 154 se administra en una composición farmacéutica descrita en la presente descripción.

Un sexto aspecto de la presente descripción proporciona un método para inhibir una respuesta inmunitaria en un sujeto. En algunos ejemplos, la respuesta inmunitaria puede inhibirse mediante la administración de un anticuerpo anti-CD154 descrito en la presente descripción a un sujeto que lo necesite. Opcionalmente, se administra una cantidad con eficacia terapéutica del anticuerpo anti-CD 154. Opcionalmente, el anti-CD154 se administra en una composición farmacéutica descrita en la presente descripción. La respuesta inmunitaria puede ser una respuesta humoral, tal como una respuesta mediada por anticuerpos. La respuesta inmunitaria puede ser una respuesta mediada por células, tal como una o más de una respuesta inmunitaria mediada por linfocitos T citotóxicos, una respuesta mediada por macrófagos, una respuesta inmunitaria mediada por células asesinas naturales (NK) o una respuesta mediada por citocinas. La respuesta inmunitaria podría ser una respuesta mixta humoral y mediada por células. La respuesta inmunitaria puede ser una respuesta primaria o una respuesta secundaria.

Cualquiera de los anticuerpos descritos en la presente descripción puede usarse con fines terapéuticos. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD 154 es un anticuerpo humano, quimérico, o humanizado. Opcionalmente, el sujeto es un humano. El sujeto puede ser no humano, tal como un mono. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 es un anticuerpo humano y el sujeto es humano. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD154 es un anticuerpo humanizado y el sujeto es humano. Alternativamente, el sujeto puede ser un mamífero (por ejemplo, un mono) que expresa CD154 con el que el anticuerpo anti-CD 154 reacciona de forma cruzada. El anticuerpo puede administrarse a un mamífero no humano que exprese CD154 con el que el anticuerpo reacciona de forma cruzada (por ejemplo, un mono cynomolgus) para fines veterinarios o como modelo animal de trasplante o enfermedad humana. Tales modelos animales pueden ser útiles para evaluar la eficacia terapéutica de los anticuerpos descritos en la presente descripción.

El anticuerpo puede administrarse una sola vez. Opcionalmente, el anticuerpo se administra múltiples veces. El anticuerpo puede administrarse desde tres veces al día hasta una vez cada seis meses o más. La administración puede realizarse según un cronograma tal como tres veces al día, dos veces al día, una vez al día, una vez cada dos días, una vez cada tres días, una vez a la semana, una vez cada dos semanas, una vez al mes, una vez cada dos meses, una vez cada tres meses, una vez cada seis meses, dos veces a la semana, tres veces a la semana, cuatro veces a la semana, dos veces cada dos semanas, tres veces cada dos semanas y cuatro veces cada dos semanas. El anticuerpo puede administrarse también de forma continua a través de una minibomba. El anticuerpo puede administrarse por vía mucosa, bucal, intranasal, inhalable, intravenosa, intravítrea, subcutánea, intramuscular, parenteral o intratumoral. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra por vía sistémica, tal como por vía subcutánea, intravenosa, oral, por inhalación, transdérmica o rectal. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra localmente. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra por vía intravítrea. El anticuerpo puede administrarse una vez, al menos dos veces o al menos durante el período de tiempo hasta que se trate, alivie o cure la afección. Generalmente, el anticuerpo se administrará mientras la afección esté presente. El anticuerpo generalmente se administrará como parte de una composición farmacéutica como se describió *supra*. La dosificación del anticuerpo generalmente estará en el intervalo de 5 a 50 mg/kg. La dosificación del anticuerpo puede ser de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 mg/kg. En algunos ejemplos, la dosificación del anticuerpo puede ser de 5 a 30 mg/kg. La dosificación del anticuerpo puede ser de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 mg/kg. Opcionalmente, la dosificación del anticuerpo es de 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg o 50 mg/kg. En algunas modalidades, la dosificación del anticuerpo es aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 25 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 35 mg/kg, aproximadamente 40 mg/kg, aproximadamente 45 mg/kg, o aproximadamente 50 mg/kg.

En algunos ejemplos, un anticuerpo anti-CD154 descrito en la presente descripción puede administrarse a un sujeto que expresa niveles inapropiadamente altos de CD 154. Opcionalmente, el sujeto ha recibido o recibirá un trasplante de células, tejidos u órganos. El trasplante puede ser un trasplante alogénico, un trasplante autólogo o un trasplante xenogénico de una célula, tejido u órgano. La célula puede ser una célula modificada genéticamente o una célula expandida ex vivo. Por ejemplo, la célula puede modificarse mediante el uso de una o más técnicas tales como la transducción para expresar un ADNc, un sistema CRISPR/Cas9, tecnología de ARNi y tecnología retroviral. Opcionalmente, la célula se modifica para expresar un receptor de antígeno quimérico (CAR) en su superficie. Los ejemplos de células que pueden trasplantarse incluyen, pero no se limita a una célula madre, una célula T reguladora (Treg), una célula CAR-T, una célula CAR-B y un linfocito infiltrante de tumores (TIL).

En algunas modalidades, cualquiera de los anticuerpos anti-CD154 de la descripción descrita en la presente descripción puede administrarse a un sujeto para prevenir un rechazo de trasplante en el sujeto. Por ejemplo, el anticuerpo anti-CD 154 puede administrarse para prevenir un rechazo humoral agudo o crónico de una célula, tejido u órgano injertado. El rechazo puede ser un rechazo del injerto agudo o crónico en un receptor de un trasplante alogénico o xenotrasplante. Los métodos descritos en la presente descripción pueden promover una supervivencia a largo plazo del injerto de la célula, tejido u órgano injertado. Opcionalmente, la supervivencia del injerto a largo plazo es de al menos 6 meses después del trasplante, al menos 1 año después del trasplante o al menos 5 años después del trasplante.

El rechazo de trasplante puede asociarse con el trasplante de células hematopoyéticas o médula ósea, un trasplante alogénico de células de los islotes pancreáticos, enfermedad de injerto contra huésped o un trasplante de órgano

- sólido seleccionado del grupo que consiste en un trasplante de corazón, un trasplante de riñón, un trasplante de hígado, un trasplante de pulmón, un trasplante de páncreas, un trasplante de riñón-páncreas, un trasplante de corazón-pulmón, un trasplante de riñón-corazón, un trasplante de riñón-corazón-páncreas, un trasplante de corazón-hígado, un trasplante de corazón-hígado-riñón, un trasplante de corazón-pulmón-riñón, un trasplante de corazón-pulmón-hígado, un trasplante de pulmón-riñón, un trasplante de pulmón-hígado, un trasplante de hígado-intestino-páncreas, un trasplante de intestino-páncreas, un trasplante de hígado-riñón-intestino-páncreas y un trasplante de riñón-intestino.
- Cualquiera de los anticuerpos anti-CD 154 descritos en la presente descripción puede administrarse a un sujeto que padece una o más enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario, un trastorno aterosclerótico o un trastorno neurodegenerativo. Un sujeto también puede haber tenido o estar en riesgo de tener uno o más de un ictus, un ataque isquémico transitorio (TIA), un aneurisma o un aneurisma disecante.
- Los ejemplos de enfermedades relacionadas con el sistema inmunitario que pueden tratarse/prevenirse mediante las composiciones/métodos descritos en la presente descripción incluyen, pero no se limita a diabetes tipo I, diabetes juvenil, diabetes autoinmunitaria, anemia hemolítica autoinmunitaria, artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico (SLE), psoriasis, esclerosis múltiple, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad de Addison, enfermedad de Crohn, enfermedad de Graves, síndrome de Sjögren, tiroiditis de Hashimoto, miastenia gravis, vasculitis, anemia perniciosa, enfermedades celíacas, síndrome de Guillain-Barré, espondilitis anquilosante, cirrosis biliar primaria, nefritis lúpica, enfermedad de Goodpasture, polimiositis, dermatomiositis, psoriasis, arteritis temporal, síndrome de Churg-Strauss, mielitis transversa, tiroiditis, colitis ulcerativa, sarcoidosis, anemia hemolítica, púrpura trombocitopénica idiopática, trastorno del espectro de la neuromielitis óptica, hemoglobinuria paroxística nocturna, síndrome hemolítico urémico atípico, respuestas inmunitarias disfuncionales asociadas con enfermedades mediadas por virus, síndrome de liberación de citocinas (CRS), síndrome de tormenta de citocinas, enfermedad de Behçet, retinopatía diabética (DR), edema macular diabético (DME), degeneración macular húmeda relacionada con la edad (AMD) y edema macular después de una oclusión de la vena retiniana (MEfRVO). Una enfermedad relacionada con el sistema inmunitario también puede incluir afecciones alérgicas que incluyen, pero no se limita a rinitis alérgica, asma, eczema atópico, anafilaxia, alergia al veneno de insectos, alergia a fármacos y alergia a los alimentos. Opcionalmente, la enfermedad relacionada con el sistema inmunitario es una afección inflamatoria de un órgano. Opcionalmente, el órgano se selecciona del grupo que consiste en pulmón, corazón y riñón. Opcionalmente, el órgano es el pulmón. Opcionalmente, la enfermedad relacionada con el sistema inmunitario es el síndrome de dificultad respiratoria aguda (ARDS), neumonía, bronquitis, neumonitis y enfermedad pulmonar obstructiva crónica (COPD). La enfermedad relacionada con el sistema inmunitario puede seleccionarse del grupo que consiste en ARDS, neumonía y neumonitis. Opcionalmente, la enfermedad relacionada con el sistema inmunitario es ARDS. Opcionalmente, la enfermedad relacionada con el sistema inmunitario es una afección asociada con una tormenta de citocinas en el hospedador, el síndrome de liberación de citocinas (CRS) o un síndrome de tormenta de citocinas.
- Opcionalmente, la enfermedad relacionada con el sistema inmunitario es una respuesta inmunitaria disfuncional asociada con una infección viral. Opcionalmente, el virus se selecciona del grupo que consiste en un citomegalovirus, un virus de Epstein-Barr, un virus de la influenza, un virus variola, un ortopoxvirus, un coronavirus, tal como el coronavirus del SARS (SARS-CoV), el SARS-CoV-2 y el MERS-CoV. Opcionalmente, el virus se selecciona del grupo que consiste en SARS-CoV, SARS-CoV-2 y MERS-CoV. El virus puede ser SARS-CoV-2. Opcionalmente, la enfermedad relacionada con el sistema inmunitario se selecciona del grupo que consiste en el síndrome respiratorio agudo severo (SARS), el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS), la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19), el síndrome de liberación de citocinas (CRS) y el síndrome de tormenta de citocinas. La enfermedad relacionada con el sistema inmunitario puede seleccionarse del grupo que consiste en el síndrome respiratorio agudo severo (SARS), el síndrome respiratorio de Oriente Medio (MERS), la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) y la gripe. Opcionalmente, la enfermedad relacionada con el sistema inmunitario es COVID-19.
- Los ejemplos de trastornos neurodegenerativos que pueden tratarse/prevenirse mediante las composiciones/métodos descritos en la presente descripción incluyen, pero no se limita a la enfermedad de Alzheimer, la lesión cerebral traumática (TBI), la encefalitis traumática crónica (CTE) y la enfermedad de Parkinson.
- Los ejemplos de trastornos ateroscleróticos que pueden tratarse/prevenirse mediante las composiciones/métodos descritos en la presente descripción incluyen, pero no se limita a angina de pecho, infarto de miocardio, estenosis carotídea, ataques isquémicos transitorios y accidente vascular cerebral (CVA).
- Opcionalmente, el método comprende administrar a dicho mamífero una cantidad con eficacia terapéutica de un anticuerpo anti-CD154 descrito en la presente descripción en combinación con uno o más agentes adicionales. Opcionalmente, el uno o más agentes adicionales se seleccionan del grupo que consiste en fármacos antitrombóticos, fármacos antiplaquetarios y fármacos antiinflamatorios no esteroides (NSAID). El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse simultáneamente con uno o más agentes adicionales. En algunos ejemplos, el anticuerpo anti-CD 154 puede administrarse secuencialmente con uno o más agentes adicionales. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra antes de uno o más agentes adicionales. El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse después de uno o más agentes adicionales. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en la misma composición que uno

o más agentes adicionales. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD 154 y uno o más agentes adicionales se administran en composiciones separadas.

5 Los ejemplos de fármacos antitrombóticos incluyen, pero no se limita a un antagonista del receptor de glicoproteína IIb/IIIa, un inhibidor directo o indirecto del factor Xa y un anticoagulante. Los ejemplos de anticoagulantes incluyen, pero no se limita a heparina, warfarina, rivaroxabán (XARELTO®), ximelgatrán (EXANTA®), dabigatrán (PRADAXA®), apixabán (ELIQUIS®), edoxabán (SAVAYSA®), enoxaparina (LOVENOX®) y fondaparinux (ARIXTRA®). Los ejemplos de fármacos antitrombóticos incluyen, pero no se limita a los descritos en las Patentes de Estados Unidos núms. 4,782,069; 5,332,822; 5,492,895; 5,612,363; 5,691,364; 5,693,641; 5,721,214; 5,726,173; 5,753,635; 5,846,970; 10 5,849,759; 5,889,005; 6,107,280; 6,140,351; 6,150,329; 6,180,627; 6,200,976; 6,242,432; 6,248,770; 6,271,215; 6,280,731; 6,287,794; 6,300,330; 6,300,342; 6,333,338; 6,395,731; 6,417,203; 6,432,955; 6,444,672; 6,451,832; 6,458,793; 6,486,129; 6,500,803; 6,583,173; 6,599,881; 6,723,723; 6,730,672; 6,753,331; 6,774,110; 6,797,710; y 6,924,296. Los ejemplos de antagonistas del receptor de glicoproteína IIb/IIIa incluyen, pero no se limita a abciximab (REOPRO®), rivaroxabán (XARELTO®), apixabán (ELIQUIS®), edoxabán (SAVAYSA®), idrabiotaparinux, tirofiban (AGGRASTAT®) y eptifibatida (INTEGRILIN®). Los inhibidores directos o indirectos del factor Xa incluyen, pero no se limita a apixabán (ELIQUIS®), idrabiotaparinux, fondaparinux (ARIXTRA®) y rivaroxabán (XARELTO®).

20 Los ejemplos de fármacos antiplaquetarios incluyen, pero no se limita a inhibidores de la vía TXA2, inhibidores de la vía del difosfato de adenosina (ADP), inhibidores de la trombina, inhibidores del receptor activado por proteasa 1 (PAR-1) e inhibidores de la fosfodiesterasa (PDE). Los ejemplos de inhibidores de la vía del ADP incluyen, pero no se limita a clopidogrel (PLAVIX®), ticlopidina (TICLID®), prasugrel (EFFIENT®), ticagrelor (BRILINTA®), cangrelor (KENGREAL®) y elinogrel. Los ejemplos no limitativos de inhibidores de la PDE incluyen dipiridamol (PERSANTINE®) y cilostazol (PLETAL®).

25 Los ejemplos de NSAID incluyen, pero no se limita a ácido acetilsalicílico, celecoxib (CELEBREX®), diclofenaco (VOLTAREN®), PENNSAID®, SOLARAZE®, ZIPSOR®, CATAFLAM®, ZORVOLEX®, diflunisal (DOLOBID®), etodolaco (LODINE SR®, ECCOXOLAC®), ibuprofeno (BRUFEN®, ADVIL®, MOTRIN®), indometacina (INDOCIN®), ketoprofeno (ORUDIS®), ketorolaco (TORADOL®, ACULAR®, SPRIX®), nabumetona (RELAFEN®), naproxeno (AFLAXEN®, ALEVE®, ANAPROX®, NAPRELAN®), oxaprozina (DAYPRO®, DAYRUN®, DURAPROX®), piroxicam (FELDENE®), salsalato (MONO-GESIC®, SALFLEX®, DISALCID®, SALSITAB®), sulindaco (CLINORIL®), tolmetina (TOLECTIN®), prasugrel (EFFIENT®), ticagrelor (BRILINTA®) y cangrelor (KENGREAL®).

35 En algunos ejemplos, el anticuerpo anti-CD154 puede administrarse en combinación con uno o más agentes suplementarios que incluyen, pero no se limita a fármacos inmunosupresores, fármacos inmunomoduladores y anticuerpos monoclonales y/o policlonales. El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse simultáneamente con uno o más agentes suplementarios. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra secuencialmente con uno o más agentes suplementarios. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD 154 se administra antes de uno o más agentes suplementarios. El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse posteriormente a uno o más agentes suplementarios. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en la misma composición que uno o más agentes 40 suplementarios. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 y uno o más agentes suplementarios se administran en composiciones separadas. Los ejemplos de dichos uno o más agentes suplementarios incluyen, pero no se limita a anticuerpos anti-CD2, anticuerpos anti-CD3, anticuerpos anti-CD4, anticuerpos anti-CD28, anticuerpos anti-CD52, anticuerpos anti-C5, inhibidores de mTOR, inhibidores de calcineurina, fármacos antivirales y péptidos de fusión que se unen a CD28 y bloquean su función. Los ejemplos no limitantes de péptidos de fusión que se unen a CD28 y bloquean su función incluyen abatacept y belatacept (NULOJIX®). Por ejemplo, el anticuerpo anti-CD52 puede ser alemtuzumab (CAMPATH®). Opcionalmente, el anticuerpo anti-C5 es eculizumab (SOLIRIS®).

50 Los ejemplos no limitantes de fármacos inmunosupresores o fármacos inmunomoduladores incluyen ciclosporina A, tacrolimus (FK-506), doxorubicina (ADRIAMYCIN®), azatioprina (IMURAN®), busulfán (BUSULFEX®), ciclofosfamida (CYTOXAN®), fludarabina, 5-fluorouracilo, metotrexato (OTREXUP®, RASUVO®, REUMATREX®, TREXALL™), micofenolato de mofetilo (CELLCEPT®), mizoribina (BREDININ™), leflunomida, un antiinflamatorio no esteroide, esteroides adrenocorticales, rapamicina (RAPAMUNE®), desoxiespergualina, FTY720, muromonab-CD3 (ORTHOCLONE OKT3®), alemtuzumab (CAMPATH®, MABCAMPATH®, CAMPATH-1H®, LEMTRADA®), basiliximab (SIMULECT®), daclizumab (ZINBRYTA®), eculizumab (SOLIRIS®), rituximab (RITUXAN®, MABTHERA®), bortezomib (VELCADE®), CHEMOBORT®, BORTECAD®, sipilizumab, globulina antitumoral (THYMOGLOBULIN®, ATGAM®), 55 leronlimab, siltuximab (SYLVANT®), sarilumab (KEVZARA®), tocilizumab (ACTEMRA®), bevacizumab (AVASTIN®), ranibizumab (LUCENTIS®), aflibercept (EYLEA®) e inhibidores de la tirosina quinasa de Bruton (BTK), que incluye zanubrutinib (BRUKINSA®), acalabrutinib (CALQUENCE®) y ibrutinib (IMBRUVICA®).

60 Los ejemplos de inhibidores de mTOR incluyen, pero no se limita a rapamicina (Rapamune®), everolimus (AFINITOR®), temsirolimus (TORISEL®), ridaforolimus y deforolimus. Los ejemplos de inhibidores de la calcineurina incluyen, pero no se limita a ciclosporina (NEORAL®, SANDIMMUNE®, GENGRAF®, RESTASIS®), tacrolimus (FK506, ENVARSUS®, HECORIA®, PROGRAF®, PROTOPIC®, ASTRAGRAF®) y pimecrolimus (ELIDEL®).

65 Los ejemplos de medicamentos antialérgicos incluyen, pero no se limita a antihistamínicos, descongestionantes, corticosteroides, estabilizadores de mastocitos, inhibidores de leucotrienos, inyecciones de epinefrina, gotas

oftálmicas de azelastina (OPTIVAR®), aerosoles nasales de azelastina (ASTELIN®, ASTEPRO®), beclometasona (QNASL® y QVAR®), betametasona (DERMABET®, DIPROLENO®), bromfeniramina (DIMETANE®), budesonida (RHINOCORT® y PULMICORT FLEXHALER®), carbinoxamina (PALGIC®), cetirizina (ZYRTEC®), ciclesonida (ALVESCO®, ZETONNA®), ciproheptadina, clorfeniramina (CHLORO-TRIMETON®), clemastina (TAVIST®), cromolín (CROLOM®), desloratadina (CLARINEX®), desonida (DESONATE®, DESOWEN®), difenhidramina (BENADRYL®), gotas oftálmicas de emedastina (EMADINE®), epinastina oftálmica (ELESTAT®), fexofenadina (ALLEGRA®), fluorometolona (FLAREX®, FML®), furoato de fluticasona (FLONASE SENSIMIST®, VERAMYST®), propionato de fluticasona (FLONASE ALLERGY RELIEF®), hidrocortisona (CORTAID®, MICORT-HC®), hidroxizina (ATARAX®, VISITARIL®), ketotifeno (ZADITOR®), gotas oftálmicas de levocabastina (LIVOSTIN®), levocabastina oral (XYZAL®), lodoxamida (ALOMIDE®), loratadina (ALAVERT®, CLARITIN®), loteprednol (ALREX®, LOTEMAX®), metilprednisolona (MEDROL®), mometasona (ASMANEX TWISTHALER®, NASONEX®, ELOCON®), combinación de nafazolina y feniramina oftálmica (OCUHIST®), nedocromil (ALOCRIL®), olopatadina oftálmica (PATANOL®), oximetazolina (AFRIN®, DRISTAN®), pemirolast (ALAMAST®), prednisolona (PRELONE®, OMNIPRED®, PRED FORTE®), prednisona (PREDNISONA INTENSOL®, RAYOS®), tetrahidrozolina (TYZINE®) y triamcinolona (NASACORT ALLERGY 24 HOUR®).

Los ejemplos de medicamentos antivirales incluyen, pero no se limita a ribavirina, interferón (alfacon-1), cloroquina, hidroxiclороquina, EIDD-2801, EIDD-1931, GS-5734, GS-441524, ivermectina, favipiravir, indometacina, clorpromazina, penciclovir, nafomostat, nitazoxanida y remdesivir.

Método de inducción del quimerismo

Un séptimo aspecto de la presente descripción proporciona un método para inducir quimerismo hematopoyético en un receptor de trasplante. En algunas modalidades, el método comprende administrar al receptor un anticuerpo anti-CD 154 descrito en la presente descripción y trasplantar al receptor células madre hematopoyéticas, de esta manera se induce quimerismo hematopoyético en el receptor. Opcionalmente, se administra una cantidad con eficacia terapéutica del anticuerpo anti-CD 154. En algunas modalidades, el anti-CD154 se administra en una composición farmacéutica descrita en la presente descripción. El anticuerpo anti-CD 154 puede administrarse simultáneamente con el trasplante de células madre hematopoyéticas. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD 154 se administra secuencialmente con el trasplante de las células madre hematopoyéticas. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra antes del trasplante de las células madre hematopoyéticas. El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse después del trasplante de células madre hematopoyéticas. Opcionalmente, el anti-CD154 se administra en una dosis única. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en dosis múltiples.

En algunos ejemplos, el anticuerpo anti-CD154 puede administrarse en una dosis de 5-50 mg/kg. El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse en una dosis de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 mg/kg. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en una dosis de 5-30 mg/kg. El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse en una dosis de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 mg/kg. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en una dosis de 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg o 50 mg/kg. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en una dosis de aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 25 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 35 mg/kg, aproximadamente 40 mg/kg, aproximadamente 45 mg/kg o aproximadamente 50 mg/kg. En algunos ejemplos, el anticuerpo anti-CD154 puede administrarse sistémicamente. El anticuerpo anti-CD 154 puede administrarse por vía subcutánea, intravenosa, intravítrea, oral, por inhalación, transdérmica o rectal. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra localmente.

En algunos ejemplos, el receptor del trasplante puede acondicionarse antes del trasplante con células madre. El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse simultáneamente con la etapa de acondicionamiento. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra secuencialmente con la etapa de acondicionamiento. En algunos ejemplos, el anticuerpo anti-CD154 puede administrarse antes de la etapa de acondicionamiento. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra posteriormente a la etapa de acondicionamiento.

Los métodos para acondicionar al receptor incluyen, pero no se limitan a, irradiación corporal total, administración de uno o más inhibidores de BCL-2, administración de busulfán, administración de fosfato de fludarabina, administración de ciclofosfamida, administración de uno o más anticuerpos inmunosupresores que eliminan los linfocitos T, administración de ciclosporina A (CsA), administración de FK-506, administración de uno o más inhibidores del receptor de interleucina-2 (IL-2), administración de inhibidores del receptor de IL-15, administración de rapamicina, administración de uno o más anticuerpos anti-receptor de linfocitos T $\alpha\beta$ y administración de uno o más antagonistas de CD 122 (que bloquean la señalización de IL2 e IL15), administración de células madre hematopoyéticas CD34+ derivadas de donantes de riñón y linfocitos T CD3+ (terapia celular MDR-101) o una de sus combinaciones. Los ejemplos no limitantes de uno o más anticuerpos que eliminan los linfocitos T incluyen anticuerpos anti-CD4, anti-CD8, anti-CD45, anti-CTLA4, anti-CD20 y anti-CD33 o una de sus combinaciones. En algunos ejemplos, el receptor del trasplante puede tener cáncer. En algunas modalidades, el trasplante es un trasplante de médula ósea.

Método de inducción de tolerancia central

Un octavo aspecto de la presente descripción proporciona un método para inducir tolerancia central en un receptor de trasplante. En algunas modalidades, el método comprende administrar al receptor un anticuerpo anti-CD 154 descrito en la presente descripción, trasplantar células madre hematopoyéticas en el receptor y trasplantar un tejido del donante en el receptor, en donde las células madre hematopoyéticas trasplantadas producen células inmunitarias que son tolerantes al tejido del donante, de esta manera se induce tolerancia central en el receptor. Opcionalmente, se administra una cantidad con eficacia terapéutica del anticuerpo anti-CD 154. En algunas modalidades, el anti-CD154 se administra en una composición farmacéutica descrita en la presente descripción. El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse simultáneamente con el trasplante de células madre hematopoyéticas. En algunas modalidades, el anticuerpo anti-CD154 se administra secuencialmente con el trasplante de las células madre hematopoyéticas. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD 154 se administra antes del trasplante de las células madre hematopoyéticas. El anticuerpo anti-CD 154 puede administrarse después del trasplante de células madre hematopoyéticas. En algunos ejemplos, el anti-CD154 puede administrarse en una dosis única. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en dosis múltiples.

Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en una dosis de 5-50 mg/kg. El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse en una dosis de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 mg/kg. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en una dosis de 5-30 mg/kg. El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse en una dosis de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 mg/kg. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en una dosis de 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg o 50 mg/kg. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD 154 se administra en una dosis de aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 25 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 35 mg/kg, aproximadamente 40 mg/kg, aproximadamente 45 mg/kg o aproximadamente 50 mg/kg. En algunos ejemplos, el anticuerpo anti-CD154 puede administrarse sistémicamente. El anticuerpo anti-CD 154 puede administrarse por vía subcutánea, intravenosa, intravítrea, oral, por inhalación, transdérmica o rectal. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra localmente.

En algunos ejemplos, el receptor del trasplante puede acondicionarse antes del trasplante con células madre. El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse simultáneamente con la etapa de acondicionamiento. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra secuencialmente con la etapa de acondicionamiento. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra antes de la etapa de acondicionamiento. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra posteriormente a la etapa de acondicionamiento.

Los métodos para acondicionar al receptor incluyen, pero no se limitan a, irradiación corporal total, administración de uno o más inhibidores de BCL-2, administración de busulfán, administración de fosfato de fludarabina, administración de ciclofosfámid, administración de uno o más anticuerpos inmunosupresores que eliminan los linfocitos T, administración de ciclosporina A (CsA), administración de FK-506, administración de uno o más inhibidores de interleucina-2 (IL-2), administración de rapamicina, administración de uno o más anticuerpos anti-receptor de linfocitos T $\alpha\beta$ y administración de uno o más antagonistas de CD 122 o una de sus combinaciones. Los ejemplos no limitantes de uno o más anticuerpos que eliminan los linfocitos T incluyen anticuerpos anti-CD4, anti-CD8, anti-CD45, anti-CTLA4, anti-CD20 y anti-CD33 o una de sus combinaciones.

Método para prevenir el rechazo de xenotrasplantes

Un noveno aspecto de la presente descripción proporciona un método para prevenir el rechazo de xenotrasplante en un receptor de trasplante. En algunas modalidades, el método comprende administrar al sujeto una cantidad eficaz de un anticuerpo anti-CD154 descrito en la presente descripción. Opcionalmente, se administra una cantidad con eficacia terapéutica del anticuerpo anti-CD 154. En algunas modalidades, el anti-CD 154 se administra en una composición farmacéutica descrita en la presente descripción. El anticuerpo anti-CD 154 puede administrarse simultáneamente con el xenotrasplante. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD 154 se administra secuencialmente con el xenotrasplante. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD 154 se administra antes del xenotrasplante. El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse después del xenotrasplante. En algunos ejemplos, el anti-CD 154 puede administrarse en una dosis única. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en dosis múltiples. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en cuatro dosis. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en cuatro dosis de 30 mg/kg. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en cuatro dosis en dos semanas. Opcionalmente, la primera dosis del anticuerpo anti-CD154 se administra en dos tiempos, una primera media dosis antes de revascularizar el injerto y una segunda media dosis una vez que se confirma que el procedimiento de xenotrasplante ha sido exitoso.

El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse en una dosis de 5-50 mg/kg. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD 154 se administra en una dosis de aproximadamente 5 a aproximadamente 50 mg/kg. El anticuerpo anti-CD154 puede administrarse en una dosis de 5-30 mg/kg. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en una dosis de aproximadamente 5 a aproximadamente 30 mg/kg. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra en una dosis de 5 mg/kg, 10 mg/kg, 15 mg/kg, 20 mg/kg, 25 mg/kg, 30 mg/kg, 35 mg/kg, 40 mg/kg, 45 mg/kg o 50 mg/kg. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD 154 se administra en una dosis de aproximadamente 5 mg/kg, aproximadamente 10 mg/kg, aproximadamente 15 mg/kg, aproximadamente 20 mg/kg, aproximadamente 25 mg/kg, aproximadamente 30 mg/kg, aproximadamente 35 mg/kg, aproximadamente 40 mg/kg, aproximadamente 45 mg/kg o aproximadamente

50 mg/kg. En algunos ejemplos, el anticuerpo anti-CD154 puede administrarse sistémicamente. El anticuerpo anti-CD 154 puede administrarse por vía subcutánea, intravenosa, intravítrea, oral, por inhalación, transdérmica o rectal. Opcionalmente, el anticuerpo anti-CD154 se administra localmente.

5 El receptor del trasplante puede ser humano y el xenotrasplante puede provenir de un donante no humano. Por ejemplo, el donante no humano puede seleccionarse de un grupo que consiste en un cerdo, un cerdo enano y un primate no humano. Opcionalmente, el donante no humano es un cerdo o un minicerdo que se ha modificado genéticamente para disminuir o eliminar la expresión de uno o más genes. Por ejemplo, los uno o más genes disminuidos o eliminados incluyen, pero no se limitan a, retrovirus endógenos porcinos (PERV), α -1,3-galactosiltransferasa (GGTA1), citidina monofosfato-N-ácido acetilneuramínico hidroxilasa (CMAH), β 1,4-N-acetilgalactosaminiltransferasa ((β 4GalNT2), y MHC clase I. Opcionalmente, el uno o más genes disminuidos o eliminados comprenden PERV. El PERV puede ser PERV A, un PERV B o un PERV C. La expresión de todos los genes PERV puede eliminarse en el cerdo o en el minicerdo. La expresión de uno o más genes puede disminuirse o eliminarse mediante el uso de la edición genética CRISPR/Cas9.

15 En algunos ejemplos, el donante no humano puede modificarse genéticamente para expresar una o más proteínas humanas. Los ejemplos de una o más proteínas humanas incluyen, pero no se limita a proteína reguladora del complemento, α -galactosidasa humana, una proteína reguladora de la coagulación, una proteína antiinflamatoria humana y CTLA-4-Ig humana o una de sus combinaciones. La una o más proteínas humanas pueden expresarse en todos los tejidos del donante no humano. Opcionalmente, una o más proteínas humanas se expresan de una manera específica del tejido en el donante no humano. Los ejemplos de proteínas reguladoras del complemento incluyen, pero no se limita al factor acelerador de la descomposición humano (CD55), la proteína cofactor de membrana (CD46) y CD59. Los ejemplos de proteínas reguladoras de la coagulación incluyen, pero no se limita a trombomodulina, receptor endotelial de proteína C, inhibidor de la vía del factor tisular, CD39 y CD73. Los ejemplos de proteínas antiinflamatorias humanas incluyen, pero no se limitan a la hemooxigenasa-1 (HO-1) y A20.

El rechazo del xenotrasplante puede asociarse con un trasplante de órgano sólido seleccionado del grupo que consiste en un trasplante de corazón, un trasplante de riñón, un trasplante de hígado, un trasplante de pulmón, un trasplante de páncreas, un trasplante de riñón-páncreas, un trasplante de corazón-pulmón, un trasplante de riñón-corazón, un trasplante de riñón-corazón-páncreas, un trasplante de corazón-hígado, un trasplante de corazón-hígado-riñón, un trasplante de corazón-pulmón-riñón, un trasplante de corazón-pulmón-hígado, un trasplante de pulmón-riñón, un trasplante de pulmón-hígado, un trasplante de hígado-intestino-páncreas, un trasplante de intestino-páncreas, un trasplante de hígado-riñón-intestino-páncreas y un trasplante de riñón-intestino.

35 Ejemplos

Los siguientes ejemplos y preparaciones usan las abreviaturas: "MSX" para metionina sulfoximina, "RU" para unidad de relación; "FACS" para clasificación celular activada por fluorescencia, "MW" para peso molecular; "His-Tag" para etiqueta de polihistidina C-terminal (6xHis) (SEQ ID NO: 331) para purificación rápida con resina quelante de níquel y detección con un anticuerpo anti-His (C-term); "BSA" para albúmina de suero bovino; "EDTA" para ácido etilendiaminotetraacético; "DMSO" para dimetilsulfóxido; "MOPS" para ácido 3-(N-morfolino)propanosulfónico; "MES" para ácido 2-(N-morfolino)etanosulfónico; "PBS" para solución salina tamponada con fosfato; "dPBS" para solución salina tamponada con fosfato de Dulbecco; "HEMA" para metacrilato de 2-hidroxietilo; "DMEM" para medio de Eagle modificado de Dulbecco; "FBS" para suero bovino fetal; "NEAA" para aminoácidos no esenciales; "HEPES" para ácido N-2-hidroxietilpiperazina-N'-2-etanosulfónico; y "DMF" para dimetilformamida.

Ejemplo 1. Generación de grupos estables de CHO que expresan el anticuerpo monoclonal anti-CD 154

Las moléculas de ADN que codifican las secuencias de los anticuerpos anti-CD154 TNX01-TNX05 con varios dominios Fc (SEQ ID NO: 175-178 y 194) se optimizaron por codones para células CHO con EcoR1 y BamH1 internos eliminados y sintetizadas por uno de dos proveedores: Gene Script (GS) y ATUM (AT). SEQ ID NO: 228 (5' - GAATTCGGCCGGCCACC) y SEQ ID NO: 229 (3'-TAATGAACGCGTGGATCC) se incluyeron en las secuencias finales como sitios de restricción EcoRI y BamH1 respectivamente. Las moléculas de ADN se clonaron en el plásmido pTT109™ (Consejo Nacional de Investigación, Canadá) mediante el uso de EcoR1 y BamH1 y transfectado de forma estable en células CHO55E1™ (Consejo Nacional de Investigación, Canadá). Se prepararon 100 µg de plásmido de grado industrial en ddH2O para las cinco construcciones. Se generaron grupos estables mediante el uso de 50 µM de MSX como agente de selección. La generación de un grupo estable mediante el uso de 50 µM MSX se realizó por duplicado. Se generaron grupos estables en placas de 6 pocillos extra profundos, producción en lote alimentado con Feed 4 (FUJIFILM IRVINE SCIENTIFIC®). Después se generaron grupos estables en volúmenes de 100 ml a pequeña escala en matraces de agitación con Feed 12.7 (FUJIFILM IRVINE SCIENTIFIC®). La figura 1 resume el título y la disponibilidad de los cinco grupos estables de células CHO que expresan el AcM anti-CD 154 en una producción en lotes alimentados de 100 ml. La Tabla 1 resume la producción del AcM anti-CD154 (TNX01-05; la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 196; la cadena pesada comprende la SEQ ID NO: 147-150 y 165, respectivamente) a partir del sobrenadante de células CHO transfectadas de forma estable como material de partida. Se usó un proceso similar para generar anticuerpos anti-CD154 TNX06-TNX13 con varios dominios Fc (SEQ ID NO: 316-319 y 293-296). La Tabla 2 resume la producción del AcM anti-CD154 (TNX06-13; la cadena ligera comprende la SEQ ID NO: 196; la

cadena pesada comprende las SEQ ID NO: 166, 234, 284, 285, 159, 160, 281 y 282, respectivamente) a partir del sobrenadante de células CHO transfectadas de forma estable como material de partida.

Tabla 1. Producción de anticuerpos a partir de células CHO estables (producción en lotes alimentados de 100 ml)

Nombre del grupo celular	Dominio Fc	Título, pA-HPLC (mg/l)	Volumen de cosecha (ml)	Cantidad total (mg)	Cantidad en 50 ml de sobrenadante (mg)
TNX01	SEQ ID NO: 1	603	100	60,3	30,15
TNX02	SEQ ID NO: 2	861	100	86,1	43,05
TNX03	SEQ ID NO: 3	615	100	61,5	30,75
TNX04	SEQ ID NO: 4	659	100	65,9	32,95
TNX05	SEQ ID NO: 14	354	100	35,4	*24,78 (*70 ml)

Tabla 2. Producción de anticuerpos a partir de células CHO estables (producción en lotes alimentados de 100 ml)

Nombre del grupo celular	Dominio Fc	Título, pA-HPLC (mg/l)	Volumen de cosecha (ml)	Cantidad total (mg)	Volumen (ml) (~30 mg)
TNX06	SEQ ID NO: 17	496	132	65	61
TNX07	SEQ ID NO: 236	463	131	61	65
TNX08	SEQ ID NO: 240	538	132	71	56
TNX09	SEQ ID NO: 241	523	131	69	57
TNX10	SEQ ID NO: 6	595	131	78	50
TNX11	SEQ ID NO: 4	643	131	84	47
TNX12	SEQ ID NO: 4	630	131	82	48
TNX13	SEQ ID NO: 4	639	131	84	47

Ejemplo 2. Purificación del anticuerpo monoclonal anti-CD 154

Los anticuerpos monoclonales anti-CD154 (TNX01-TNX13) del Ejemplo 1 se purificaron mediante purificación por afinidad de proteína A mediante el uso de 4 columnas HiTrap MabSelect SuRe de 1 ml. Las siguientes etapas se realizaron de acuerdo con las instrucciones del fabricante. (1) El equilibrio/lavado se realizó mediante el uso de DPBS; (2) Se cargaron 4x10 ml de las muestras a un régimen de flujo lineal para la unión establecida en aproximadamente 45 cm/h (0,3 ml/min) para obtener un tiempo de residencia de aproximadamente 3,3 minutos; (3) La elución se realizó mediante el uso de citrato 0,1 M a un pH de 3,0; (4) La neutralización se realizó mediante el uso de tampón HEPES 1 M al 10 % (v/v). Las muestras se intercambiaron con tampón DPBS mediante el uso de columnas de desalinización Zeba Spin de 5 ml (ThermoFisher Scientific, Waltham MA) y se filtraron asépticamente en 0,22 µm. No se observó precipitación durante la elución o neutralización. En la Tabla 3 más abajo se resumen las características de los anticuerpos obtenidos después de la purificación y desalinización de la proteína A, y los rendimientos de las trece muestras de anticuerpos monoclonales anti-CD154 purificados obtenidos de los grupos estables CHOSSE1. Tenga en cuenta que TNX04 y TNX05 requirieron una purificación adicional mediante el uso de cromatografía preparativa de exclusión por tamaño (prep-SEC) para eliminar los agregados.

Tabla 3. Recuperación de anticuerpos después de la purificación

Identificación de muestra/Número de lote	Dominio Fc	Cantidad (mg)	Concentración (mg/ml)	Volumen (ml)	% Monómero (UPLC-SEC)
TNX01	SEQ ID NO: 1	22,84	11,77	1,94	98,3
TNX02	SEQ ID NO: 2	29,38	15,22	1,93	99,1
TNX03	SEQ ID NO: 3	20,79	11,49	1,81	98,3
TNX04	SEQ ID NO: 4	19,04	1,63	11,68	99,0
TNX05	SEQ ID NO: 14	14,54	1,23	11,8	99,8
TNX06	SEQ ID NO: 17	21,28	13,30	1,60	98,15
TNX07	SEQ ID NO: 236	22,31	13,86	1,61	94,61
TNX08	SEQ ID NO: 240	20,34	13,30	1,53	95,92
TNX09	SEQ ID NO: 241	21,52	13,79	1,56	94,82
TNX10	SEQ ID NO: 6	21,88	13,76	1,59	97,72
TNX11	SEQ ID NO: 4	21,52	13,45	1,60	97,24
TNX12	SEQ ID NO: 4	23,22	14,79	1,57	97,44
TNX13	SEQ ID NO: 4	19,01	12,34	1,54	97,62

Las muestras se analizaron mediante SDS PAGE durante cada etapa del proceso de purificación mediante el uso de gel teñido con Sypro Ruby en condiciones no reductoras. También se analizaron muestras una vez que se obtuvo el producto final. Como se muestra en la Figura 2, en condiciones no reductoras, se estimó que los AcM TNX01-TNX05 tenían un peso molecular de 160-170 kDa, excepto TNX04 que existe como una cadena pesada libre (HC) y una cadena ligera libre (LC). En TNX04, las cadenas pesadas y ligeras corren por separado en una SDS-PAGE desnaturalizante, en condiciones no reductoras, dado que las cisteínas que forman los enlaces disulfuro (C220, C226 y C229) están mutadas. Los resultados de UPLC-SEC sugieren que las interacciones no covalentes forman un AcM intacto en condiciones fisiológicas. Es probable que las bandas de menor peso molecular (LMW) se deban a la

fragmentación artefactual de los AcM durante la preparación de las muestras de SDS-PAGE. Como se muestra en la Figura 10, se estimó que los AcM TNX06-TNX13 tenían un peso molecular de 160-170 kDa, excepto TNX11, que se comporta como un semianticuerpo y presumiblemente forma una estructura no covalente 2HC-2LC.

5 Los productos finales se analizaron, además, mediante cromatografía líquida de ultra rendimiento con exclusión por tamaño (UPLC-SEC) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. *Resultados:* Estos resultados demuestran que se obtuvieron muestras altamente puras de los anticuerpos anti-CD154 de la descripción.

10 Ejemplo 3. Determinación de la unión del anticuerpo monoclonal anti-CD 154 a CD40L mediante resonancia de plasmón de superficie (SPR) mediante el uso del BIACORE®

La unión de los anticuerpos anti-CD 154 purificados, del Ejemplo 2, a CD40L se midió mediante resonancia de plasmón de superficie mediante el uso del instrumento BIACORE® T200 y un sensorchip CM-5 de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

15 Específicamente, el CD40L comercial (SINO BIOLOGICAL® Núm. Cat. LC12AP2301) se inyectó sobre grupos de anticuerpos anti-CD154 (TNX01-05) capturados en una superficie de proteína A (2000 Rus; Núm. Cat. Z02201 GENSCRIPT®, Piscataway, NJ), mediante el uso de PBST pH 7,4 (PBS con 0,05 % de Tween 20) como tampón de corrida. La superficie de captura del anticuerpo SPR se preparó mediante el uso de proteína A (Núm. Cat Z02201 GENSCRIPT®, Piscataway, Nueva Jersey), 2000 Rus. El ligando fue 1,25-2,5 µg/ml del AcM (TNX01-TNX05) capturado durante 10 s a un flujo de 10 µl/min para generar aproximadamente 50 RU de superficies de anticuerpos. El analito fue CD40L (SINO BIOLOGICAL® 10239-H08E) resuspendido de acuerdo con las recomendaciones del fabricante. Se realizó una cinética de ciclo único con 4 concentraciones (dilución en 3 veces de 6,0/1,5/0,38/nM, flujo de 75 µl/min, s de asociación, disociación de 1800 s. La regeneración se realizó con 1 × 60 s glicina 10 mM pH 1,5, flujo 30 µl/min.

30 Los datos crudos (n=3) se procesaron mediante el uso del programa informático Evaluación BIACORE® T200. La Figura 3 proporciona sensorgramas representativos de CD40L para TNX01-TNX05 y demostró un modelo de unión 1:1. Como CD40L es un trimero, los sensorgramas se desviaron un poco del comportamiento de unión ideal debido a la posibilidad de una unión ávida (múltiples sitios de unión) por parte del antígeno trimero. Todos los ajustes deben considerarse valores de K_D "aparente" porque los sensorgramas se desviaban del comportamiento de enlace 1:1. La unión de CD40L se basa en el ajuste calculado de los sensorgramas.

35 La figura 4 resume los datos generados a partir del análisis de SPR y de los valores de K_D aparente calculados (afinidad; relación entre k_d y k_a). TNX05 no se unió a la superficie de la proteína A tan eficientemente como TNX01-TNX04. Esta unión más débil puede representar un componente más pequeño de aidez en estos sensorgramas. Una menor densidad de superficie indica que las moléculas TNX05 están más separadas, lo que podría equivaler a que menos moléculas sCD40L interactúen con múltiples parátomos de anticuerpos en un momento dado. TNX01-TNX05 fueron comparables en términos de K_D y se acercó al límite inferior de medición de afinidad para la plataforma del instrumento en términos de la tasa de medida en funcionamiento.

40 Para TNX06-TNX13, los sensorgramas se generaron mediante el uso del programa informático Evaluación BIACORE®T200 y se compararon mediante el uso del enfoque de comparabilidad de sensorgramas. Este método es una comparación estadística únicamente de la forma del sensorgrama, independientemente del análisis cinético, desarrollado por GEHealthcare para la plataforma Biacore T200. Se genera una ventana 3SD promedio de variación en la dispersión del sensorgrama para un lote como referencia (TNX02), que después se compara por pares con las otras variantes. A cada comparación por pares se le evaluó una puntuación de similitud basada en el número de puntos dentro de la ventana de variación y la distancia de los puntos fuera de la ventana de referencia. Mediante el uso de este método, todas las muestras se compararon con la ventana de dispersión de TNX02 recolectada por triplicado. 50 Todas las variantes (TNX06-TNX13) analizadas mostraron aproximadamente un 80 % de similitud con los sensorgramas de TNX02 para la unión de sCD40L sin grandes desviaciones obvias en la tasa de activación o desactivación, lo que indica que todas se unen de manera similar. Véase Figura 11.

55 *Resultados:* Estos resultados demuestran que cada uno de los anticuerpos anti-CD 154 de la descripción se unen a CD40L. TNX01-TNX04 (anticuerpos anti-CD154 purificados) se unen a CD40L con una afinidad de unión de aproximadamente 10 pM (ver Figura 4). TNX05 tuvo una unión ligeramente más débil, alrededor de 20 pM (véase, Figura 4). TNX06-13 son aproximadamente un 80% similares a TNX02 en la forma en que se unen a CD40L sin grandes desviaciones obvias.

60 Ejemplo 4. Determinación de la unión del anticuerpo monoclonal anti-CD154 a FcγRIA mediante resonancia de plasmón de superficie (SPR) mediante el uso del BIACORE®

La unión de los anticuerpos anti-CD 154 purificados del Ejemplo 2 a FcγRIA de alta afinidad (CD64) se midió mediante resonancia de plasmón de superficie (SPR) mediante el uso del Instrumento BIACORE® T200 y un sensorchip CM-5 de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

- Específicamente, FcγRIA se inyectó sobre grupos de anticuerpos anti-CD154 inmovilizados sobre una superficie de proteína A (2,000 Rus; Núm. Cat. Z02201 GENSCRIPT®, Piscataway, NJ), mediante el uso de PBST pH 7,4 (PBS con 0,05 % de Tween 20) como tampón de corrida. El ligando fue 1,25-2,5 µg/ml de AcM (TNX01-TNX05) capturado durante 10 s a un flujo de 10 µl/min para generar aproximadamente 250-400 RU de superficies de anticuerpos. El analito FcγRIA (CD64; Consejo Nacional de Investigación, Canadá) se resuspendió en PBST que contenía 3,4 mM de EDTA y 0,05 % de Tween20 y se utilizó en un intervalo de concentración de 300 a 0,14 nM, a un régimen de flujo de 100 µl/min, tiempo de asociación de 90 s, tiempo de disociación de 1200 s. La regeneración se realizó con 1 × 60 s glicina 10 mM pH 1,5, flujo 30 µl/min.
- Los datos crudos (n=3) se procesaron mediante el uso del programa informático Evaluación BIACORE®T200. La Figura 5 proporciona sensorgramas de FcγRIA representativos para TNX01-TNX05 y demuestra un modelo de enlace 1:1.
- La figura 6 resume los datos generados a partir del análisis de SPR y de los valores de K_D aparente calculados (afinidad; relación de k_d a k_a) para TNX01-05. Debido a la alta afinidad del ligando CD64 (TNX02 $K_D \sim 30$ pM), pudieron determinarse los valores exactos de K_D para todas las variantes de pérdida de función. TNX04 mostró una pérdida de actividad de 11 veces, seguido por TNX05 con una pérdida de 300 veces. Tanto TNX01 como TNX03 tuvieron una pérdida de actividad de 3000 veces (rápida activación y desactivación), lo que requirió un análisis de punto final en estado estable en lugar de un análisis cinético.
- Las figuras 12a-12c resumen los datos generados a partir del análisis de SPR y de los valores de K_D aparente calculados (afinidad; relación de k_d a k_a) para la unión de TNX06-13 a FcγRIA. De TNX06 a TNX13 se analizaron con éxito para su unión a FcγRIa. Debido a la alta afinidad del ligando CD64 (TNX02 $K_D \sim 40$ pM), pudieron determinarse los valores exactos de K_D para todas las variantes de pérdida de función. TNX06, 07, 11, 12 y 13 mostraron una unión entre 6-12 veces más débil que TNX02. TNX08, 09 y 10 tuvieron una unión 2600, 3800 y 1800 veces más débil, respectivamente (rápida activación y desactivación).
- Resultados:** Estos resultados demuestran que, como se deseaba, los anticuerpos anti-CD 154 de la descripción demuestran una unión reducida a FcγRIA.
- Ejemplo 5. Determinación de la unión del anticuerpo monoclonal anti-CD 154 al FcγR de baja afinidad por resonancia de plasmón de superficie (SPR) mediante el uso del BIACORE®
- La unión de los anticuerpos anti-CD 154 purificados del Ejemplo 2 a un panel FcγR de baja afinidad (CD16aF, CD16aV, CD32aH, CD32bF) se midió por resonancia de plasmón de superficie (SPR) mediante el uso del instrumento BIACORE® T200 y un sensorchip CM-5 de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Este panel de antígenos FcγR de baja afinidad representa los alotipos más comunes de los diferentes receptores que se han usado para evaluar la función efectora de los anticuerpos de interés. Véase, Geuijen y otros, FEES Open Bio 7 (2017) 1557-1574 (2017); Hanson y Barb, Biochemistry, 54, 2931-2942 (2015); Smith and Clatworthy Nature Reviews Immunol (10):328-344 (2010); Weiner y otros, Nature Reviews Immunol (10):317-327 (2010).
- Específicamente, los antígenos en un panel FcγR (CD16aF, CD16aV, CD32aH, CD32bF) se inyectaron cada uno sobre grupos de anticuerpos anti-CD154 (TNX01-TNX05) sobre una superficie de proteína A (2000 Rus; núm. Cat. Z02201 GENSCRIPT®, Piscataway, NJ), mediante el uso de PBST pH 7,4 (PBS con 0,05 % de Tween 20) como tampón de corrida. El ligando fue 1,25 - 2,5 µg/ml de AcM (TNX01-TNX05) capturado durante 10 s a un flujo de 10 µl/min para generar aproximadamente 200-500 RU de superficies de anticuerpos (dependiente de la superficie). Los analitos fueron antígenos del panel FcγR (CD16aF, CD16aV, CD32aH, CD32bF; Consejo Nacional de Investigación, Canadá), que se resuspendieron en PBST que contenía EDTA 3,4 mM y Tween20 al 0,05 %. Se realizó una cinética de ciclo único a una concentración que oscilaba entre 12 µM y 0,062 µM, régimen de flujo de 25 µl/min, asociación de 15 s (CD32aH y CD32bF) y asociación de 40 s (CD16aF y CD16aV), tiempo de disociación de 120 s. La regeneración se realizó con 1 × 60 s glicina 10 mM pH 1,5, flujo 30 µl/min (datos de SPR no mostrados). Por lo tanto, se analizó TNX01-TNX05 para determinar su unión al panel FcγR de baja afinidad (CD16aF, CD16aV, CD32aH, CD32bF) del Consejo Nacional de Investigación de Canadá, Centro de Investigación en Terapéutica de Salud Humana, midiendo la afinidad en estado estable.
- La figura 7 resume los datos generados a partir del análisis de SPR y de los valores de K_D aparente calculados (afinidad; relación de k_d a k_a) para TNX01-05. En particular, TNX02 mostró la unión de tipo silvestre esperada, mientras que las otras variantes mostraron una unión significativamente reducida. En particular, TNX01 y TNX03 demostraron casi ninguna actividad de unión en las concentraciones de FcγR evaluadas. TNX05 mostró una pérdida de unión de 5 a 20 veces a los diversos receptores. TNX04 mostró una pérdida de unión de 20 a 60 veces a CD16aV, CD32aH, CD32bF y una unión indetectable a CD16aF (FcγRIIIaF).
- Las figuras 13a-13b resumen los datos generados a partir del análisis de SPR y de los valores de K_D aparente calculados (afinidad; relación de k_d a k_a) para la unión de TNX06-13 a FcγR de baja afinidad. TNX02 mostró la unión de tipo silvestre esperada, mientras que las otras variantes mostraron pérdidas significativas de función. En particular, TNX11 casi no mostró actividad de unión a las concentraciones de FcγR analizadas con ninguno de los miembros del

panel de FcγR de baja afinidad. TNX06 y 07 mostraron una pérdida de actividad de ~2 a 10 veces contra los diversos receptores de baja afinidad. TNX08 mostró una pérdida de actividad de 2 a 17 veces contra los diversos receptores de baja afinidad. TNX09 y 10 mostraron una actividad indetectable contra todos los receptores de baja afinidad excepto CD16aV (FcγRIIIaV) al que ambos tenían una pérdida de ~ 12 veces. TNX12 mostró una actividad indetectable contra todos los receptores de baja afinidad excepto CD32bF (FcγRIIbF) para el cual tuvo una pérdida de 8 veces. TNX13 mostró una actividad indetectable contra CD16aV (FcγRIIIaV) y CD16aF (FcγRIIIaF) y tuvo una pérdida de actividad de unión de 6 y 17 veces contra CD32bF (FcγRIIbF) y CD32aH (FcγRIIIaH), respectivamente.

Resultados: Estos resultados demuestran que los anticuerpos anti-CD154 de la descripción no se unen o muestran una unión reducida a varios receptores de FcγR de baja afinidad.

Ejemplo 6. Unión de anticuerpos monoclonales anti-CD154 en células Jurkat D1.1 y Jurkat

Se evaluó la unión de los anticuerpos anti-CD 154 purificados del Ejemplo 2 a las células Jurkat D1.1 (CD40L positivas) y a las células Jurkat (CD40L negativas). Yellin, MJ, y otros; J. Immunol. 147:3389-3395 (1991); Lederman, S, y otros J. Exp. Med. 175:1091-1101 (1992); patente de Estados Unidos Núm. 6,331,433. Se realizaron ensayos de unión de células por FACS de alto rendimiento mediante el uso de los anticuerpos de prueba (TNX01-TNX05) y un anticuerpo de control (anti-CD40L humano generado en ratón (R&D MAB617)). SYNAGIS® Se utilizó como anticuerpo de control negativo de isotipo IgG1 humano. Los reactivos de detección fueron AF488 F(ab')₂ anti-IgG humana generado en burro, específico del fragmento Fcγ (Jackson ImmunoResearch, Westgrove, PA), y anti-IgG de ratón generado en cabra, específico del fragmento Fcγ (Jackson ImmunoResearch, Westgrove, PA). Brevemente, 10⁵ células Jurkat o D1.1 se incubaron durante 2 horas a 4 °C con 0-200 nM del anticuerpo primario y 1 hora a 4 °C con el anticuerpo de detección secundario seguido de tinción de viabilidad con yoduro de propidio (solución al 1 %). La adquisición de señales en las muestras de citometría de flujo se realizó el mismo día en un LSR FORTRESSA™ (BD Biosciences). Las células se lavaron y se midió la fluorescencia de AlexaFluor488 mediante el uso del láser de 488 nm como fuente de excitación y el filtro de paso de banda de 530/30 nm. La intensidad de fluorescencia media (MFI) se determinó para 5000 células individuales vivas por muestra. Los ensayos de unión de células FACS se realizaron de manera similar para los anticuerpos de prueba TNX06-TNX13.

Como se muestra en la Figura 8(a), los anticuerpos anti-CD 154 (TNX01-TNX05) se unen con alta afinidad a las células D1.1, mientras que el anticuerpo de control negativo (SYNAGIS®) no tenía una unión detectable con las células D1.1. Los valores de K_D se calcularon mediante el uso del parámetro de enlace específico con ajuste de pendiente de Hill. A diferencia de la Figura 8(a), la Figura 8(b) demuestra que todos los anticuerpos anti-CD 154 y el anticuerpo de control negativo (SYNAGIS®) no lograron unirse a las células Jurkat, que no expresan CD40L en sus superficies. Como se muestra en la Figura 14(a), todos los anticuerpos anti-CD154 (TNX06-TNX13) se unen con alta afinidad a las células D1.1, mientras que el anticuerpo de control negativo (SYNAGIS®) no tuvo unión detectable a las células D1.1. Los valores de K_D se calcularon mediante el uso del parámetro de enlace específico con ajuste de pendiente de Hill.

Resultados: Estos resultados demuestran que los anticuerpos anti-CD 154 purificados de la descripción se unen a las células D1.1 que expresan CD40L con alta afinidad.

Ejemplo 7. Estudio de activación plaquetaria con anticuerpos monoclonales anti-CD 154

Se evaluó la capacidad de los anticuerpos anti-CD154 purificados del Ejemplo 2 para activar las plaquetas. CD40L (CD154) es un potente activador del factor nuclear kappa B (NF-κB) en las plaquetas que estimula y mejora la activación plaquetaria en respuesta a estímulos trombóticos. Además, la unión del dominio Fc de los AcM anti-CD40L (tal como hu5c8) al receptor activador FcγRIIa (CD32a) en las plaquetas resulta en la activación y agregación de las plaquetas. Kojok K y otros; J Am Heart Assoc. 7:e009636 (2018); Shock y otros, Arthritis Res Ther. Sep 3;17:234 (2015); Xie y otros, The Journal of Immunology, 192: 4083-4092 (2014).

Las muestras de sangre de donantes humanos sanos, mayores de 18 años, se recolectan en tubos de recolección de sangre al vacío estériles (BD Vacutainer B364606 de tapa amarilla, Canadá), se mezclan suavemente cuatro veces mediante inversión y se analizan en 60 minutos. Una parte de la sangre se trata previamente con un anticuerpo anti-CD32a (FcγRIIa) y se incuba a temperatura ambiente (RT) durante 30 minutos. También se analiza una parte de la sangre no tratada (es decir, sin incubación con un anticuerpo anti-CD32a) de cada donante. Las condiciones de prueba incluyen: (1) CD40L humano recombinante soluble (sCD40L) solo; (2) sCD40L en complejo con IgG1 humana anti-CD40L; (3) un agonista plaquetario directo, sal sódica de adenosina 5'-difosfato, junto con anticuerpos de detección para los marcadores de superficie celular de fenotipo plaquetario CD41a y CD61, y los marcadores de activación plaquetaria P-selectina (CD62P) y GPIIb/IIIa activado (PAC1). Se evalúan las relaciones IC de HuIgG1 anti-CD40L:sCD40L de 1:1, 1:2, 1:3, 5, 1:4, 1:5 y 1:6 para activar las plaquetas. Para determinar los recuentos absolutos de cada tipo de célula, se agregan 50 µl de 123count eBeads (Invitrogen, NJ) a los pocillos. Todas las condiciones se evaluaron por triplicado. Las plaquetas se analizaron para su activación mediante citometría de flujo.

La Tabla 4 más abajo resume las concentraciones finales de las moléculas usadas en el ensayo de plaquetas:

Molécula	Descripción	Concentración final usada
Medio	Control de inicio	--

5	Excipiente	PBS	--
	TI 1 (sCD40L)	sCD40L, evaluado solo a 10 µg/ml y en IC	10 µg/ml, 20 µg/ml, 35 µg/ml, 40 µg/ml, 50 µg/ml y 60 µg/ml
	TI 2 Hu IgG1 anti-CD40L (hu5c8-IgG1)	anti-CD40L (hu5c8-IgG1) (anticuerpo absoluto Cedarlane, Canadá)	10 µg/ml
	TI 3 IgG1 de ratón anti-Hu CD40L	IgG1 de ratón anti-Hu CD40L	10 µg/ml
	ADP	Sal sódica de adenosina 5'-difosfato, control positivo	10 µg/ml ≈ 22 µM
10	Hu IgG1 anti-CD40L con unión reducida a FcR (TNX01-TNX13)	Dominio Fc que contiene mutaciones puntuales clave que disminuyen/anulan la unión a los receptores Fc gamma	10 µg/ml

15 Una vez teñidas y fijadas, las muestras se adquieren en el citómetro de flujo Cytoflex mediante el uso del programa informático Cytexpert versión 1.2 (Beckman Coulter, MN) y se analizan mediante el uso del programa informático FlowJo versión 10.1 (FlowJo LLC, OR). Las células plaquetarias se definen según el perfil de dispersión frontal (FSC; una indicación de tamaño) y de dispersión lateral (SSC; una indicación de granularidad). Además, se registra el estado activado y no activado de las plaquetas identificadas en base al portal de salida. El recuento absoluto mediante el uso de 123count eBeads se calcula mediante el uso de la siguiente fórmula: (células/µl) = (recuento de células/recuento de eBead) X concentración de eBead.

20 A partir de los datos registrados, se agrupan todos los pozos de la misma muestra, se promedian y se calcula la desviación estándar, así como también el % del coeficiente de variación (CV) entre réplicas mediante el uso del programa informático LibreOffice™ Calc. A partir de los archivos Calc generados, se generan tablas que incluyen el porcentaje de cada población celular.

25 A continuación, se calcula las veces de inducción sobre el control para cada grupo de tratamiento en el ensayo de plaquetas realizado en la relación molar óptima para cada anticuerpo de prueba:sCD40L. Las veces de inducción sobre el control es la relación entre la intensidad de fluorescencia media (MFI) de cada grupo de tratamiento para cada parámetro (CD62P o PAC-1) sobre la MFI del grupo sanguíneo de control. Se espera que el anticuerpo anti-CD32a, que bloquea selectivamente la activación plaquetaria inducida por IC 5c8-IgG1/sCD40L, no muestre efecto sobre la activación plaquetaria inducida por ADP, un agonista plaquetario directo. Se espera que 5c8-IgG1 (el control positivo) muestre activación plaquetaria. Se espera que los anticuerpos de prueba de la presente descripción (TNX01-TNX13) muestren una actividad disminuida o nula en el ensayo de activación plaquetaria.

30 *Resultados:* Se espera que estos resultados demuestren que los anticuerpos anti-CD 154 purificados de la descripción tienen una capacidad disminuida para activar o agregar plaquetas a diferencia del control positivo hu5c8-IgG1.

35 Ejemplo 8. Anticuerpos monoclonales anti-CD 154 para el tratamiento del rechazo de trasplante cardíaco

40 Se realizó un trasplante de corazón heterotópico en un mono macaco Cynomolgus. El corazón se trasplantó en el abdomen y se conectó a la arteria aórtica descendente y a la vena cava. El anticuerpo anti-CD154 TNX05 (hu5c8 mutado-IgG4 (IgG4 S228P/L235A)) se administró al mono por vía intravenosa. Al mono se le administró una dosis de 30 mg/kg cuatro veces durante las dos primeras semanas. La mitad de la primera dosis del anticuerpo anti-CD154 TNX05 se administró antes de revascularizar el injerto y la otra mitad cuando se confirmó que el procedimiento fue exitoso. Después de las dos primeras semanas, se administró al mono una dosis de 10 mg/kg una vez por semana durante cuatro semanas. Después, se le administró al mono 20 mg/kg una vez cada cuatro semanas. La dosis del día 84 se redujo de 20 mg/kg a 15 mg/kg.

45 Se recogió sangre los días 70, 77 y 84 y se realizó un hemograma completo. Todos los parámetros evaluados estaban dentro de los intervalos normales, como se ve en la Tabla 5 más abajo para el mono con dosis de 30 mg/kg. El corazón trasplantado del mono latía con fuerza a la palpación y también se mantenía la contractilidad, como se observó mediante ecografía. No se detectó ningún signo de rechazo del corazón trasplantado hasta el día 84. No se detectaron signos de trombosis ni eventos tromboembólicos hasta el día 84.

Tabla 5.

60	Intervalos normales	Parámetro*	Día 70	Día 77	Día 84
	6,9 - 14,5	WBC	7,2	11	5,6
	4,4 - 7,0	LYM	3,4	4	2,1
	0,0 - 0,2	MONO	0,6	1,1	0,6
	3,3 - 6,3	GRAN	3,2	5,9	2,9
65		LYM %	47,9	36,9	37,9
		MONO %	7,3	9,6	8,8
		GRAN %	44,8	53,5	53,3
	40,7 - 47,3	HCT	36,1	38,1	38,3

72,3 - 83,7	MCV	67,5	68,1	66,9
0,0 - 99,9	RDW _a	56,6	54,4	53,2
0,0 - 99,9	RDW %	20,1	19,2	19
12,8 - 15,0	HGB	11,8	12,2	12,4
31,1 - 32,9	MCHC	32,8	32	32,6
23,1 - 26,9	MCH	22,1	21,8	21,8
5,10 - 6,30	RBC	5,35	5,59	5,72
302 - 734	PLT	236	129	201
0,0 - 99,9	MPV	8,5	8,9	9,2
*WBC: glóbulo blanco; LYM: Linfocitos (%: porcentaje del total de células); MONO: Monocitos (%: porcentaje del total de células); GRAN: Granulocitos (%: porcentaje del total de células); HCT: Hematocrito; MCV: Volumen corpuscular medio; RDW: Ancho de distribución de glóbulos rojos (a: valor absoluto y % porcentaje); HGB: Hemoglobina; MCHC: Concentración de hemoglobina corpuscular media; MCH: Hemoglobina corpuscular media; RBC: Recuento de glóbulos rojos; PLT: Recuento de plaquetas; MPV: Volumen plaquetario medio.				

Se realizó biopsia el día 91. Dos días después de la biopsia, un dispositivo de telemetría mostró una disminución de la función del injerto cardíaco. Una ecografía demostró que la contractilidad del injerto estaba reducida. La exploración del abdomen confirmó que el injerto latía débilmente. Le eliminaron el injerto y le practicaron la eutanasia al mono.

La autopsia no mostró ninguna evidencia de tromboembolismo fuera del injerto cardíaco, donde se encontró un trombo fresco confinado a las cavidades ventriculares, como se espera después de que un injerto deja de latir y la sangre en el corazón se vuelve estática. Los pulmones no presentaban infartos y el cerebro y el intestino estaban completamente normales. Estos son sitios en los que se observaron trombos principalmente después de la administración de anticuerpos de la técnica anterior. Las anastomosis del injerto estaban ampliamente abiertas y sin coágulos.

Resultados: Estos resultados demuestran que los anticuerpos de la invención son capaces de prevenir el rechazo de trasplante, evitando al mismo tiempo los problemas de trombosis causados por los anticuerpos de la técnica anterior.

Tabla 6. Secuencias de anticuerpos anti-CD154 humanizados.

SEQ ID	Descripción	Secuencias
Fc (CH2-CH3 CON Y SIN LISINA TERMINAL Y CON/CON BISAGRA		
Dominio Fc, sin lisina terminal		
1	TNX01 IgG1 Fc (N297Q)	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
2	TNX02 IgG1 Fc (tipo silvestre)	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
3	TNX03 IgG1 Fc (N297G)	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
4	TNX04 TNX11 TNX12 TNX13 IgG1 Fc (P238S)	APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG
5	TNX05 TNX14 IgG4 Fc (L235A)	APEFAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS DGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG

(continuación)

SEQ ID	Descripción		Secuencias
Fc (CH2-CH3 CON Y SIN LISINA TERMINAL Y CON/CON BISAGRA			
Dominio Fc, sin lisina terminal			
6	TNX10 IgG1 Fc (L234A, L235A)	APEAAAGGGSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
7	Fc IgG1 (P238S, N297Q)	APELLGGGSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPG	
8	TNX06 IgG4 Fc de tipo silvestre	APEFLGGGSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSLG	
9	IgG2 Fc de tipo silvestre	APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD GMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP APIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSV MHEALHNHYTQKSLSLSPG	
237	TNX07 IgG4 Fc (S228P)	APEFLGGGSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSLG	
238	TNX08 IgG4 Fc (L235E)	APEFEGGGSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSLG	
239	TNX09 IgG4 Fc (F234A, L235A)	APEAAAGGGSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL PSSIIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSLG	
Dominio Fc + lisina terminal			
10	TNX01 IgG1 Fc (N297Q)	APELLGGGSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
11	TNX02 IgG1 Fc (tipo silvestre)	APELLGGGSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
12	TNX03 IgG1 Fc (N297G)	APELLGGGSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	
13	TNX04 TNX11 TNX12 TNX13 IgG1 Fc (P238S)	APELLGGGSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK	

(continuación)

Dominio Fc + lisina terminal		
5	14	TNX05 TNX14 IgG4 Fc (L235A)
		APEFAAGGGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
10	15	TNX10 IgG1 Fc (L234A, L235A)
		APEAAAGGGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
15	16	Fc IgG1 (P238S, N297Q)
		APELLGGGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
20	17	TNX06 IgG4 Fc de tipo silvestre
		APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
25	18	IgG2 Fc de tipo silvestre
		APFVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVTHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
30	240	TNX08 IgG4 Fc (L235E)
		APEFEGGGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
35	241	TNX09 IgG4 Fc (F234A, L235A)
		APEAAAGGGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
40	Región Fc, sin lisina terminal	
	19	TNX01 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (N297Q)
45		EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
50	20	TNX02 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (tipo silvestre)
		EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
55	21	TNX03 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (N297G)
		EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
60	22	TNX04 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (C220S, C226S, 229S, P238S)
		EPKSSDKTHTSPSPAPELLGGGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

(continuación)

Región Fc, sin lisina terminal			
5	23	TNX05 TNX14 IgG4 bisagra-Fc (S228P, L235A)	ESKYGPCCPPCPAPEFAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
10	24	TNX10 IgG1 bisagra-Fc (L234A, L235A)	EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
15	25	IgG1 bisagra-Fc (P238S)	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
20	26	IgG1 bisagra-Fc (P238S, N297Q)	EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
25	27	TNX06 IgG4 bisagra-Fc de tipo silvestre	ESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
30	28	IgG2 Fc bisagra de tipo silvestre	ERKCCVCEPPCPAPFVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGMEVHNATKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRDEMTKQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
35	29	IgG1 bisagra-Fc (C220S, C226S, 229S, P238S, N297Q)	EPKSSDKTHTSPFSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
40	30	IgG1 bisagra-Fc (C220S, C226S, 229S)	EPKSSDKTHTSPFSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
45	31	IgG1 bisagra-Fc (C220S, N297Q)	EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
50	32	IgG1 bisagra corta-Fc (C226S, C229S, P238S)	THTSPFSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
55	33	IgG1 bisagra corta-Fc (C226S, C229S)	THTSPFSPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
60	34	IgG1 bisagra corta-Fc (C226S, C229S, P238S, N297Q)	THTSPFSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
65			

(continuación)

Región Fc, sin lisina terminal		
5	35	IgG1 <u>bisagra corta</u> -Fc (C226S, C229S, N297Q)
10	36	IgG1 <u>bisagra corta</u> -Fc (N297Q)
15	37	TNX11 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (C226S, 229S, P238S)
20	242	TNX07 IgG4 <u>bisagra</u> -Fc (S228P)
25	243	TNX08 IgG4 <u>bisagra</u> -Fc (L235E)
30	244	TNX09 IgG4 <u>bisagra</u> -Fc (F234A, L235A)
35	245	TNX12 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (C229S, P238S)
40	246	TNX13 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (C226S, P238S)
45	Región Fc + lisina terminal	
50	38	TNX01 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (N297Q)
55	39	TNX02 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (tipo silvestre)
60	40	TNX03 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (N297G)
65		

(continuación)

Región Fc + lisina terminal		
5	41	TNX04 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (C220S, C226S, 229S, P238S)
		EPKSSDKTHTSPSPAPPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
10	42	TNX05 IgG4 <u>bisagra</u> -Fc (S228P, L235A)
		ESKYGPPCPFCPAPEFAGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
15	43	TNX10 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (L234A, L235A)
		EPKSCDKTHTCPFCPAPEAAGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
20	44	IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (P238S)
		EPKSCDKTHTCPFCPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
25	45	IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (P238S, N297Q)
		EPKSCDKTHTCPFCPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
30	46	TNX06 IgG4 <u>bisagra</u> -Fc de tipo silvestre
		ESKYGPPCPFCPAPEFLGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
35	47	IgG2 Fc <u>bisagra</u> de tipo silvestre
		ERKCCVECPFCAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVVDVSH EDPEVQFNWYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPIEKTI SKTKGQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
40	48	IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (C220S, C226S, 229S, P238S, N297Q)
		EPKSSDKTHTSPSPAPPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
45	49	IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (C220S, C226S, 229S)
		EPKSSDKTHTSPSPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
50	50	IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (C220S, N297Q)
		EPKSSDKTHTCPFCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
55	51	IgG1 <u>bisagra</u> corta-Fc (C226S, C229S, P238S)
		THTSPSPAPPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVTVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
60		
65		

(continuación)

Región Fc + lisina terminal		
5	52	IgG1 <u>bisagra</u> <u>corta</u> -Fc (C226S, C229S)
		THTSPSPAPPELLGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
10	53	IgG1 <u>bisagra</u> <u>corta</u> -Fc (C226S, C229S, P238S, N297Q)
		THTSPSPAPPELLGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
15	54	IgG1 <u>bisagra</u> <u>corta</u> -Fc (C226S, C229S, N297Q)
		THTSPSPAPPELLGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
20	55	IgG1 <u>bisagra</u> <u>corta</u> -Fc (N297Q)
		THTCPPEAPPELLGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
25	56	TNX11 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (C226S, 229S, P238S)
		EPKSCDKTHTSPSPAPPELLGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
30	24 7	TNX08 IgG4 <u>bisagra</u> -Fc (S228P, L235E)
		ESKYGPPCPPEAPPEFEGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK
35	24 8	TNX09 IgG4 <u>bisagra</u> -Fc (S228P, F234A, L235A)
		ESKYGPPCPPEAPPAAGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK
40	24 9	TNX12 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (C229S, P238S)
		EPKSCDKTHTCPSPAPPELLGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
45	25 0	TNX13 IgG1 <u>bisagra</u> -Fc (C226S, P238S)
		EPKSCDKTHTSPPCAPPELLGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
50	25 1	TNX14 IgG4 <u>bisagra</u> -Fc (L115T, S228P, L235A)
		ESKYGPPCPPEAPFAAGGSPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSPDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSLGK
55		
60	Componentes de cadena pesada y ligera (CDR, VH, VL CH1, CH2, CH3)	
	57	CDR H1
	58	CDR H2
	59	CDR H3
	60	CDR L1
	61	CDR L2
65	62	CDR L3
		SYMY EINPSNGDTNFNEKFS SDGRNDMS ISCRASQRVSSSTYSYM YASNLES QHSWEIPT

(continuación)

Componentes de cadena pesada y ligera (CDR, VH, VL CH1, CH2, CH3)		
5	63	VH completa (con líder)
		<u>MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIG</u> <u>EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSED</u> <u>TAVYYCTR</u> <u>SDGRNDMDSWGQGT</u> <u>LVTVSS</u>
	64	VH completa (sin líder)
		<u>QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG</u> <u>EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSED</u> <u>TAVYYCTR</u> <u>SDGRNDMDSWGQGT</u> <u>LVTVSS</u>
10	252	VH completa (con líder) (L115T)
		<u>MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIG</u> <u>EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSED</u> <u>TAVYYCTR</u> <u>SDGRNDMDSWGQGT</u> <u>LVTVSS</u>
15	253	VH completa (sin líder) (L115T)
		<u>QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG</u> <u>EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSED</u> <u>TAVYYCTR</u> <u>SDGRNDMDSWGQGT</u> <u>LVTVSS</u>
20	65	VL completa (con líder)
		<u>MRLPAQLLGLLMLWVSGSSGDIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQRV</u> <u>SSSTYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLT</u> <u>ISSVEPEDE</u> <u>FATYYCQHSWEI</u> <u>PPTFGGGTKLEIK</u>
	66	VL completa (sin líder)
		<u>DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQRVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPK</u> <u>LLIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDE</u> <u>FATYYCQHSWEI</u> <u>PPTFGGGTKLEIK</u>
25	67	IgG1 CH1 (tipo silvestre) (numeración EU 118-215)
		<u>ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG</u> <u>VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV</u>
	68	IgG1 CH2 (tipo silvestre) (231-340)
		<u>APELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI</u> <u>SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKAL</u> <u>PAPIEKTISKAK</u>
30	69	IgG1 CH3 (tipo silvestre) (341-446)
		<u>GQPREPQVYTLPPSRDELTRNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN</u> <u>NYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYTQ</u> <u>KSLSLSPGK</u>
	70	IgG2 CH1 (tipo silvestre)
		<u>ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG</u> <u>VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV</u>
35	71	IgG2 CH2 (tipo silvestre) (231-339 EU)
		<u>APPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI</u> <u>SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVD</u> <u>GVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP</u> <u>APIEKTISKTK</u>
	72	IgG2 CH3 (tipo silvestre) (340-446 EU)
40		<u>GQPREPQVYTLPPSRREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPEN</u> <u>NYKTTTPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNYTQ</u> <u>KSLSLSPGK</u>
	73	IgG4 CH1 (tipo silvestre)
		<u>ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG</u> <u>VHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV</u>
45	74	IgG4 CH2 (tipo silvestre) (231-339 EU)
		<u>APEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI</u> <u>SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYV</u> <u>DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGL</u> <u>PSSI EKTISKAK</u>
	75	IgG4 CH3 (tipo silvestre) (341-447 EU)
50		<u>GQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPEN</u> <u>NYKTTTPVLDSDGSFFLYSLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNYTQ</u> <u>KSLSLSLGK</u>
	BISAGRAS	
	76	IgG1 bisagra (216-230)
		<u>EPKSCDKTHTCPPCP</u>
	77	IgG1 bisagra (C229S)
		<u>EPKSCDKTHTCPPSP</u>
	78	IgG1 bisagra (C226S)
		<u>EPKSCDKTHTSPPCP</u>
55	79	IgG1 bisagra (C220S)
		<u>EPKSSDKTHTCPPCP</u>
	80	IgG1 bisagra (C220S, C229S)
		<u>EPKSSDKTHTCPPSP</u>
	81	IgG1 bisagra (C226S, C229S)
		<u>EPKSCDKTHTSPPSP</u>
60	82	IgG1 bisagra (C220S, C226S)
		<u>EPKSSDKTHTSPPCP</u>
	83	IgG1 bisagra-Fc (C220S, C226S, 229S)
		<u>EPKSSDKTHTSPPSP</u>
	84	IgG1 bisagra corta-Fc (C226S, C229S)
65		<u>THTSPPSP</u>
	85	IgG1 bisagra corta-Fc
		<u>THCPPCP</u>

(continuación)

BISAGRAS		
5	86	IgG1 bisagra corta-Fc (C226S)
	87	IgG1 bisagra corta-Fc (C229S)
	88	IgG4 bisagra-Fc (S228P)
	89	Bisagra-IgG4 Fc de tipo silvestre (216-230)
10	90	Bisagra-IgG2 Fc de tipo silvestre (216-230)
Dominios constantes de cadena pesada (ASTenlazador-CH1-bisagra-CH2-CH3 con y sin residuo de lisina terminal)		
ASTenlazador-CH1-bisagra-CH2-CH3 sin K terminal		
15	91	TNX01 CH1-CH2-CH3 IgG1(N297Q)
20		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPFCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDW LNKKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
25	92	TNX02 CH1-CH2-CH3 IgG1 (peso)
30		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT CPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY N STYRVVSVLTVLHQDW LNKKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
35	93	TNX03 CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297G)
40		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT CPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDW LNKKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
45	94	TNX04 CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S)
50		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSSDKTHT SPSP PAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY N STYRVVSVLTVLHQDW LNKKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
55	95	TNX05 CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, L235A)
60		ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPP CPFC PAPEFAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
65	96	TNX06 CH1-CH2-CH3 IgG4 Tipo silvestre
		ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPP CPSC PAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVDS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

(continuación)

Dominios constantes de cadena pesada (ASTenlazador-CH1-bisagra-CH2-CH3 con y sin residuo de lisina terminal)		
ASTenlazador-CH1-bisagra-CH2-CH3 sin K terminal		
5	97	CH1-CH2-CH3 IgG2 Tipo silvestre
10		ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVTSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSH EDPEVQFNWYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPI EKTISKTKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLT CLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSGDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
15	98	CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S)
20		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV THTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
25	99	CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S, N297Q)
30		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDW LNKKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
35	100	CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S, N297Q)
40		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV THTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
45	101	CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S, N297G)
50		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDW LNKKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
55	102	CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S, N297G)
60		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV THTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
65	103	TNX10 CH1-CH2-CH3 IgG1 (L234A, L235A)
		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNKKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

(continuación)

5	104	TNX11 CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, C229S, P238S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
10	254	TNX07 CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPFCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
15	255	TNX08 CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, L235E)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPFCPAPEFEGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
20	256	TNX09 CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, F234A, L235A)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPFCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG
25	257	TNX12 IgG1 CH1-CH2- CH3 IgG1 (C229S, P238S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPSPPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
30	258	TNX13 IgG1 VH-CH1- CH2-CH3 IgG1 (C226S, P238S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTSPPCPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
35	259	TNX14 VH-CH1-CH2- CH3 IgG4 (L115T, S228P, L235A)	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPFCPAPEFAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVWVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSLG

(continuación)

ASTlinker-CH1-bisagra-CH2-CH3 con terminal K		
5	105	TNX01 CH1-CH2-CH3 IgG1(N297Q)
10		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
15	106	TNX02 CH1-CH2-CH3 IgG1 (peso)
20		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT CPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY N STYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
25	107	TNX03 CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297G)
30		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHT CPPC PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
35	108	TNX04 CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S)
40		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSSDKTHT SPPS PAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVTV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY N STYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPI EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
45	109	TNX05 CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, L235A)
50		ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTRTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPP CPFC PAPEFAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVTV QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
55	110	TNX06 CH1-CH2-CH3 IgG4 Tipo silvestre
60		ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTRTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPP CPSC PAPEFLGGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVTV QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
65	111	CH1-CH2-CH3 IgG2 Tipo silvestre
		ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTV ERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVTV EDPEVQFNWYVDGMEVHNAKTKPREEQFNSTFRVVSVLTVVHQDWLNGK EYKCKVSNKGLPAPI EKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKS RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(continuación)

ASTlinker-CH1-bisagra-CH2-CH3 con terminal K			
5	112	CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV THTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
10	113	CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S, N297Q)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
15	114	CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S, N297Q)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV THTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG
20	115	CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S, N297G)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSSDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
25	116	CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S, N297G)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV THTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDP EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQ QGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
30	117	TNX10 CH1-CH2-CH3 IgG1 (L234A, L235A)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
35	118	TNX11 CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, C229S, P238S)	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKV EPKSCDKTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(continuación)

ASTlinker-CH1-bisagra-CH2-CH3 con terminal K		
5	260	TNX07 CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P)
10		ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPAPCFEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
15	261	TNX08 CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, L235E)
20		ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPAPCFEFGGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
25	262	TNX09 CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, F234A, L235A)
30		ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPAPCAAGGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
35	263	TNX12 IgG1 CH1-CH2- CH3 IgG1 (C229S, P238S)
40		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTCPPAPPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
45	264	TNX13 IgG1 VH-CH1- CH2-CH3 IgG1 (C226S, P238S)
50		ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRV EPKSCDKTHTSPCPAPPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVD VSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDW LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
	265	TNX14 VH-CH1-CH2- CH3 IgG4 (L115T, S228P, L235A)
		ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSG VHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRV ESKYGPPCPAPCFAGGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKGLPSSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
Cadena pesada de longitud completa con y sin líder; con y sin residuo de lisina terminal		
Secuencias de longitud completa de cadena pesada con líder y sin K terminal		
55	119	TNX01 VH-CH1-CH2- CH3 IgG1 (N297Q)
60		MPLLLLLLP LLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY MYWVKQAPGQGLEWIGEINPNSGDTNENEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDYAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPP CPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
65		

(continuación)

Cadena pesada de longitud completa con y sin líder; con y sin residuo de lisina terminal		
Secuencias de longitud completa de cadena pesada con líder y sin K terminal		
5	120	TNX02 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (peso)
10		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSSYY MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS 15 CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
20	121	TNX03 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297G)
25		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSSYY MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPP CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS 25 CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
30	122	TNX04 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S)
35		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSSYY MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSSDKTHTSP \$PAPELLGG\$SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS 40 CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
45	123	TNX05 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, L235A)
50		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSSYY MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPPCPA PEFAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV 50 MHEALHNHYTQKSLSLSLG
55	124	TNX06 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 Tipo silvestre
60		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSSYY MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKV DKRVESKYGPPCPSCPA PEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP SSIEKTIISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV 60 MHEALHNHYTQKSLSLSLG

(continuación)

Cadena pesada de longitud completa con y sin líder; con y sin residuo de lisina terminal		
Secuencias de longitud completa de cadena pesada con líder y sin K terminal		
5	125	VH-CH1-CH2-CH3 IgG2 Tipo silvestre
10		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVTSSNFGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKTV ERKCCVECP PCA PFVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG MEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLT VVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPA PIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTT PPM L DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVM 15
20	126	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S)
25		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVTHTSPPSPAPELL GGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLT VLVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTT P PVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
30	127	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S, N297Q)
35		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVTHTSPPSPAPELL GGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLT VLVHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTT P PVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG
40	128	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S, N297Q)
45		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVTHTSPPSPAPELL GGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLT VLVHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTT P PVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEA 50
55	129	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S, N297Q)
60		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVTHTSPPSPAPELL GGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQYQSTYRVVSVLT VLVHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTT P PVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSC SVMHEA LHNHYTQKSLSLSPG

(continuación)

Cadena pesada de longitud completa con y sin líder; con y sin residuo de lisina terminal		
Secuencias de longitud completa de cadena pesada con líder y sin K terminal		
5	130	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S, N297G)
10		<u>MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP</u> <u>SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVTHTS</u><u>PPSP</u><u>PAPELL</u> <u>GGSSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV</u> <u>HNAKTKPREEQYGSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE</u> <u>KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE</u> <u>SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA</u> <u>LHNHYTQKSLSLSPG</u>
15		
20	131	TNX10 VH-CH1-CH2- CH3 IgG1 (L234A, L235A)
25		<u>MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAP</u> <u>SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT</u><u>CPP</u> <u>C</u><u>PAPEA</u><u>AGGPSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW</u> <u>YVDGVEVHNAKTKPREEQYN</u><u>STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS</u> <u>DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS</u> <u>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u>
30	132	TNX11 VH-CH1-CH2- CH3 IgG1 (C226S, C229S, P238S)
35		<u>MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGLTVTVSS</u><u>ASTKGPSVFPLAP</u> <u>SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS</u><u>CDKTHT</u><u>SPP</u> <u>S</u><u>PAPELLGG</u><u>SVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW</u> <u>YVDGVEVHNAKTKPREEQYN</u><u>STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS</u> <u>DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS</u> <u>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG</u>
40	266	TNX07 VH-CH1-CH2- CH3 IgG4 (S228P)
45		<u>MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGLTVTVSS</u><u>ASTKGPSVFPLAP</u> <u>CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVVTVPSSSLG</u><u>TKTYTCNV</u><u>DHKPSNTKVDKR</u><u>VESKYGPP</u><u>CP</u><u>CPA</u> <u>PEF</u><u>LGGPSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDV</u><u>QEDPEVQFNWYVD</u> <u>GVEVHNAKTKPREEQFN</u><u>STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP</u> <u>SSI</u><u>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPS</u><u>QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA</u> <u>VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSLG</u>
50		
55	267	TNX08 VH-CH1-CH2- CH3 IgG4 (S228P, L235E)
60		<u>MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGLTVTVSS</u><u>ASTKGPSVFPLAP</u> <u>CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVVTVPSSSLG</u><u>TKTYTCNV</u><u>DHKPSNTKVDKR</u><u>VESKYGPP</u><u>CP</u><u>CPA</u> <u>PEF</u><u>EGGPSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDV</u><u>QEDPEVQFNWYVD</u> <u>GVEVHNAKTKPREEQFN</u><u>STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP</u> <u>SSI</u><u>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPS</u><u>QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA</u> <u>VEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSLG</u>

(continuación)

Cadena pesada de longitud completa con y sin líder; con y sin residuo de lisina terminal		
Secuencias de longitud completa de cadena pesada con líder y sin K terminal		
5	268	TNX09 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, F234A, L235A)
10		MPLLLLLLPLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGGGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME
15		LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
		YSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKV DKR VESKYGPPCPPCPA
		PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVD
		GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP
		SSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
		VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV
		MHEALHNHYTQKSLSLSLG
20	269	TNX12 IgG1 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C229S, P238S)
25		MPLLLLLLPLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGGGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME
		LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
		YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPP
		SPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
		YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
		ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
		DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
		CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
30	270	TNX13 IgG1 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, P238S)
35		MPLLLLLLPLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGGGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME
		LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
		YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTSP
		CPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
		YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
		ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
		DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
		CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG
40	271	TNX14 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (L115T, S228P, L235A)
45		MPLLLLLLPLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGGGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME
		LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
		YSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKV DKR VESKYGPPCPPCPA
		PEFAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVD
		GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP
		SSIEKTI SKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA
		VEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV
50		MHEALHNHYTQKSLSLSLG
Secuencias de cadena pesada de longitud completa arriba con líder y terminal K		
55	133	TNX01 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297Q)
60		MPLLLLLLPLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGGGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME
		LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL
		YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKV DKKVEPKSCDKTHTCPP
		CPAPELLGGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW
		YVDGVEVHNAKTKPREEQYSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK
		ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS
		DIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS
		CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(continuación)

Secuencias de cadena pesada de longitud completa arriba con líder y terminal K		
5	134	TNX02 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (peso)
10		<u>MPLLLLLLP</u><u>LLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCTRSDGRNDMDSWGQGT</u><u>LVTVSSASTKGPSVFPLAP</u> <u>SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT</u><u>SVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVTVPS</u><u>SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT</u><u>CPP</u> <u>CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW</u> <u>YVDGVEVHN</u><u>AKTKPREEQYN</u><u>STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPI</u><u>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL</u><u>TKNQVSLTCLVKG</u><u>FYP</u><u>PS</u> <u>DI</u><u>AVEWESNGQPENNYK</u><u>TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS</u> <u>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
15	135	TNX03 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297G)
20		<u>MPLLLLLLP</u><u>LLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCTRSDGRNDMDSWGQGT</u><u>LVTVSSASTKGPSVFPLAP</u> <u>SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT</u><u>SVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVTVPS</u><u>SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT</u><u>CPP</u> <u>CPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW</u> <u>YVDGVEVHN</u><u>AKTKPREEQY</u><u>GSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPI</u><u>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL</u><u>TKNQVSLTCLVKG</u><u>FYP</u><u>PS</u> <u>DI</u><u>AVEWESNGQPENNYK</u><u>TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS</u> <u>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
25	136	TNX04 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S)
30		<u>MPLLLLLLP</u><u>LLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCTRSDGRNDMDSWGQGT</u><u>LVTVSS</u><u>ASTKGPSVFPLAP</u> <u>SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT</u><u>SVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVTVPS</u><u>SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS</u><u>SDKTHT</u><u>SP</u> <u>SPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW</u> <u>YVDGVEVHN</u><u>AKTKPREEQYN</u><u>STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPI</u><u>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDEL</u><u>TKNQVSLTCLVKG</u><u>FYP</u><u>PS</u> <u>DI</u><u>AVEWESNGQPENNYK</u><u>TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFS</u> <u>CSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK</u>
35	137	TNX05 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, L235A)
40		<u>MPLLLLLLP</u><u>LLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCTRSDGRNDMDSWGQGT</u><u>LVTVSS</u><u>ASTKGPSVFPLAP</u> <u>CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT</u><u>SVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVTVPS</u><u>SSLG</u><u>TKTYTCNV</u><u>DHKPSNTKVDKR</u><u>VESKYGPP</u><u>CP</u><u>PCPA</u> <u>PEF</u><u>AGG</u><u>PSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDV</u><u>SQEDPEVQ</u><u>FNWYVD</u> <u>GVEVHN</u><u>AKTKPREEQFN</u><u>STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP</u> <u>SSI</u><u>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ</u><u>EEMTKNQVSLTCLVKG</u><u>FYP</u><u>PS</u><u>DIA</u> <u>VEWESNGQPENNYK</u><u>TPPVLDSDGSFFLYSRL</u><u>TVDKSRWQEGNVFSCSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSLGK</u>
45	138	TNX06 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 Tipo silvestre
50		<u>MPLLLLLLP</u><u>LLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCTRSDGRNDMDSWGQGT</u><u>LVTVSSASTKGPSVFPLAP</u> <u>CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT</u><u>SVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVTVPS</u><u>SSLG</u><u>TKTYTCNV</u><u>DHKPSNTKVDKR</u><u>VESKYGPP</u><u>CP</u><u>SCPA</u> <u>PEF</u><u>L</u><u>GG</u><u>PSVFLFPPKPKDTLMI</u><u>SRTPEVTCVVVDV</u><u>SQEDPEVQ</u><u>FNWYVD</u> <u>GVEVHN</u><u>AKTKPREEQFN</u><u>STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP</u> <u>SSI</u><u>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQ</u><u>EEMTKNQVSLTCLVKG</u><u>FYP</u><u>PS</u><u>DIA</u> <u>VEWESNGQPENNYK</u><u>TPPVLDSDGSFFLYSRL</u><u>TVDKSRWQEGNVFSCSV</u> <u>MHEALHNHYTQKSLSLSLGK</u>
55		
60		
65		

(continuación)

Secuencias de cadena pesada de longitud completa arriba con líder y terminal K		
139	VH-CH1-CH2-CH3 IgG2 tipo silvestre	<u>MP</u>LLLLLL<u>PL</u>WAGALA<u>QVQLVQ</u>SGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY MYWVKQAPGQGLEWIG<u>GEIN</u>PSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCT<u>RS</u>DGRNDMDSWGQGT<u>LVTVSS</u>ASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT<u>SV</u>WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVT<u>VTSS</u>NFGTQTYTCNV<u>DH</u>KPSNTKVDKTV<u>ER</u>KCCV<u>EC</u>PPCPA PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDG MEVHNAKTKEREEQFNSTFRVVS<u>VL</u>TVVHQDWLNGKEYCKVSNKGLPA PIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPMLDS<u>DGS</u>FFLYSKLTVDKSRWQQGNV<u>FSC</u>SVM HEALHNHYTQKSLSLSPGK
140	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S)	<u>MP</u>LLLLLL<u>PL</u>WAGALA<u>QVQLVQ</u>SGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY MYWVKQAPGQGLEWIG<u>GEIN</u>PSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCT<u>RS</u>DGRNDMDSWGQGT<u>LVTVSS</u>ASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT<u>SV</u>WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVTH<u>TSP</u>SPAP<u>ELL</u> GGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQY<u>Q</u>STYRVVS<u>VL</u>TVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIE RTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDS<u>DGS</u>FFLYSKLTVDKSRWQQGNV<u>FSC</u>SVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
141	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S, N297Q)	<u>MP</u>LLLLLL<u>PL</u>WAGALA<u>QVQLVQ</u>SGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY MYWVKQAPGQGLEWIG<u>GEIN</u>PSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCT<u>RS</u>DGRNDMDSWGQGT<u>LVTVSS</u>ASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT<u>SV</u>WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVTH<u>TSP</u>SPAP<u>ELL</u> GGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQY<u>Q</u>STYRVVS<u>VL</u>TVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIE ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS<u>DGS</u>FFLYSKLTVDKSRWQQGNV<u>FSC</u>SVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
142	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S, N297Q)	<u>MP</u>LLLLLL<u>PL</u>WAGALA<u>QVQLVQ</u>SGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY MYWVKQAPGQGLEWIG<u>GEIN</u>PSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCT<u>RS</u>DGRNDMDSWGQGT<u>LVTVSS</u>ASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT<u>SV</u>WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVTH<u>TSP</u>SPAP<u>ELL</u> GGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQY<u>Q</u>STYRVVS<u>VL</u>TVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIE KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDS<u>DGS</u>FFLYSKLTVDKSRWQQGNV<u>FSC</u>SVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK
143	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S, N297G)	<u>MP</u>LLLLLL<u>PL</u>WAGALA<u>QVQLVQ</u>SGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY MYWVKQAPGQGLEWIG<u>GEIN</u>PSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCT<u>RS</u>DGRNDMDSWGQGT<u>LVTVSS</u>ASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT<u>SV</u>WNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVTH<u>TSP</u>SPAP<u>ELL</u> GGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV HNAKTKPREEQY<u>Q</u>STYRVVS<u>VL</u>TVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIE ALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS DIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDS<u>DGS</u>FFLYSKLTVDKSRWQQGNV<u>FSC</u>SVMHEA LHNHYTQKSLSLSPGK

(continuación)

Secuencias de cadena pesada de longitud completa arriba con líder y terminal K		
5	144	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S, N297G)
10		<u>MP</u><u>LLLLLL</u><u>PLL</u><u>WAGALA</u><u>QVQLVQ</u><u>SGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCT</u><u>RS</u><u>DGRNDMDSWGQGT</u><u>LVTVSSASTKGPSVFPLAP</u> <u>SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP</u><u>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVHTHT</u><u>SPPS</u><u>PAPELL</u> <u>GGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEV</u> <u>HN</u><u>AKTKPREEQY</u><u>GS</u><u>TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIE</u> <u>KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE</u> <u>SNGQ</u><u>PENNYKTT</u><u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV</u><u>FSCSV</u><u>MHEA</u> <u>LHNHYTQKSLSLSPGK</u>
15	145	TNX10 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (L234A, L235A)
20		<u>MP</u><u>LLLLLL</u><u>PLL</u><u>WAGALA</u><u>QVQLVQ</u><u>SGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCT</u><u>RS</u><u>DGRNDMDSWGQGT</u><u>LVTVSSASTKGPSVFPLAP</u> <u>SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP</u><u>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT</u><u>CPP</u> <u>CPAPEA</u><u>AGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW</u> <u>YVDGVEVHN</u><u>AKTKPREEQY</u><u>NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPIE</u><u>KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS</u> <u>DI</u><u>AVEWESNGQ</u><u>PENNYKTT</u><u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV</u><u>FSCSV</u><u>MHEA</u> <u>LHNHYTQKSLSLSPGK</u>
25	146	TNX11 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, C229S, P238S)
30		<u>MP</u><u>LLLLLL</u><u>PLL</u><u>WAGALA</u><u>QVQLVQ</u><u>SGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCT</u><u>RS</u><u>DGRNDMDSWGQGT</u><u>LVTVSSASTKGPSVFPLAP</u> <u>SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEP</u><u>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT</u><u>SP</u> <u>SPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNW</u> <u>YVDGVEVHN</u><u>AKTKPREEQY</u><u>NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK</u> <u>ALPAPIE</u><u>KTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPS</u> <u>DI</u><u>AVEWESNGQ</u><u>PENNYKTT</u><u>PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV</u><u>FSCSV</u><u>MHEA</u> <u>LHNHYTQKSLSLSPGK</u>
35	272	TNX07 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P)
40		<u>MP</u><u>LLLLLL</u><u>PLL</u><u>WAGALA</u><u>QVQLVQ</u><u>SGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCT</u><u>RS</u><u>DGRNDMDSWGQGT</u><u>LVTVSSASTKGPSVFPLAP</u> <u>CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP</u><u>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVESKYGPP</u><u>CP</u><u>PCPA</u> <u>PEF</u><u>LG</u><u>GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV</u><u>QEDPEVQFNWYVD</u> <u>GVEVHN</u><u>AKTKPREEQFN</u><u>STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP</u> <u>SSI</u><u>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA</u> <u>VEWESNGQ</u><u>PENNYKTT</u><u>PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV</u><u>FSCSV</u><u>MHEA</u> <u>LHNHYTQKSLSLSLGK</u>
45	273	TNX08 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, L235E)
50		<u>MP</u><u>LLLLLL</u><u>PLL</u><u>WAGALA</u><u>QVQLVQ</u><u>SGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYY</u> <u>MYWVKQAPGQGLEWIGEINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME</u> <u>LSSLRSEDTAVYYCT</u><u>RS</u><u>DGRNDMDSWGQGT</u><u>LVTVSSASTKGPSVFPLAP</u> <u>CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEP</u><u>TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL</u> <u>YSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVESKYGPP</u><u>CP</u><u>PCPA</u> <u>PEF</u><u>EG</u><u>GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDV</u><u>QEDPEVQFNWYVD</u> <u>GVEVHN</u><u>AKTKPREEQFN</u><u>STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLP</u> <u>SSI</u><u>EKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIA</u> <u>VEWESNGQ</u><u>PENNYKTT</u><u>PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV</u><u>FSCSV</u><u>MHEA</u> <u>LHNHYTQKSLSLSLGK</u>
55		

(continuación)

Secuencias de cadena pesada de longitud completa arriba con líder y terminal K		
5	274	TNX09 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, F234A, L235A)
10		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSY MYWVKQAPGQGLEWIGGINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAP CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPFCPA PEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVD GVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLT V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P SSI E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D K S R W Q E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S L G K
15	275	TNX12 IgG1 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C229S, P238S)
20		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSY MYWVKQAPGQGLEWIGGINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P S P A P E L L G G S S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K
25	276	TNX13 IgG1 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, P238S)
30		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSY MYWVKQAPGQGLEWIGGINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAP SSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T S P P C P A P E L L G G S S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G K
35	277	TNX14 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (L115T, S228P, L235A)
40		MPLLLLLLPLLWAGALAQVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSY MYWVKQAPGQGLEWIGGINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYME LSSLRSEDTAVYYCTRS DGRNDMDSWGQGT T V T V S S A S T K G P S V F P L A P CSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGL YSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPFCPA P E F A G G P S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S Q E D P E V Q F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q F N S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K G L P S S I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S Q E E M T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S R L T V D K S R W Q E G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S L G K
45		
Secuencias de cadena pesada de longitud completa sin líder y sin K terminal		
50	147	TNX01 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297Q)
55		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGT LVT VSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGT QTYTCNV N H K P S N T K V D K K V E P K S C D K T H T C P P C P A P E L L G G S S V F L F P P K P K D T L M I S R T P E V T C V V D V S H E D P E V K F N W Y V D G V E V H N A K T K P R E E Q Y Q S T Y R V V S V L T V L H Q D W L N G K E Y K C K V S N K A L P A P I E K T I S K A K G Q P R E P Q V Y T L P P S R D E L T K N Q V S L T C L V K G F Y P S D I A V E W E S N G Q P E N N Y K T T P P V L D S D G S F F L Y S K L T V D K S R W Q Q G N V F S C S V M H E A L H N H Y T Q K S L S L S P G

(continuación)

Secuencias de cadena pesada de longitud completa sin líder y sin K terminal		
148	TNX02 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (peso)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPC PAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQY N STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPG
149	TNX03 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297G)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPPC PAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQY N STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPG
150	TNX04 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLLTVSS ASTKGPSV FPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHT SPPS PAPELLGGSSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQY N STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPG
151	TNX05 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, L235A)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPPC PAPEFAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSL SLG
152	TNX06 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 Tipo silvestre	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLLTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPP CPSC PAPEFLGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSL SLG

(continuación)

Secuencias de cadena pesada de longitud completa sin líder y sin K terminal			
5	153	VH-CH1-CH2-CH3 tipo silvestre	IgG2
10			QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNENEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSED ^{EN} TAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGT ^{EN} LVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTSSNFGT QTYTCNV ^{EN} DHKPSNTKVDK ^{EN} TV ^{EN} ERKCCVECP ^{EN} PCAPPVAGPSVFLFPPKPK DTLMI ^{EN} SRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGMEVHNAKTKPREEQFN STFRVSVLT ^{EN} VVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ^{EN} TT PMLDS ^{EN} DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV ^{EN} FSCSV ^{EN} MHEALHNHYTQKSLSLSPG
15	154	VH-CH1-CH2-CH3 (ΔE216-K222 BISAGRA) C229S, P238S)	IgG1 EN (C226S, C229S, P238S)
20			QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNENEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSED ^{EN} TAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGT ^{EN} LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS ^{EN} SLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKV ^{EN} THT ^{EN} SPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY ^{EN} NSTY RVVSVLT ^{EN} VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ^{EN} TT ^{EN} PPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV ^{EN} FSCSV ^{EN} MHEALHNHYTQKSLSLSPG
25	155	VH-CH1-CH2-CH3 (C220S, C226S, C229S, P238S, N297Q)	IgG1
30			QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNENEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSED ^{EN} TAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGT ^{EN} LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS ^{EN} SLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHT ^{EN} SPPSPAPELLGGSSVFLFPP PKPKDTLMI ^{EN} SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYQSTYRVVSVLT ^{EN} VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY K ^{EN} TT ^{EN} PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV ^{EN} FSCSV ^{EN} MHEALHNHYTQKSLSLSPG
35	156	VH-CH1-CH2-CH3 (ΔE216-K222 BISAGRA) C229S, P238S, N297Q)	IgG1 EN (C226S, C229S, P238S, N297Q)
40			QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNENEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSED ^{EN} TAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGT ^{EN} LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS ^{EN} SLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKV ^{EN} THT ^{EN} SPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTY RVVSVLT ^{EN} VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ^{EN} TT ^{EN} PPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV ^{EN} FSCSV ^{EN} MHEALHNHYTQKSLSLSPG
45	157	VH-CH1-CH2-CH3 (C220S, C226S, C229S, P238S, N297G)	IgG1
50			QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNENEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSED ^{EN} TAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGT ^{EN} LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS ^{EN} SLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHT ^{EN} SPPSPAPELLGGSSVFLFPP PKPKDTLMI ^{EN} SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYQSTYRVVSVLT ^{EN} VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY K ^{EN} TT ^{EN} PPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV ^{EN} FSCSV ^{EN} MHEALHNHYTQKSLSLSPG
55	158	VH-CH1-CH2-CH3 (ΔE216-K222 BISAGRA) C229S, P238S, N297G)	IgG1 EN (C226S, C229S, P238S, N297G)
60			QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNENEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSED ^{EN} TAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGT ^{EN} LVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS ^{EN} SLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKV ^{EN} THT ^{EN} SPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTY RVVSVLT ^{EN} VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK ^{EN} TT ^{EN} PPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV ^{EN} FSCSV ^{EN} MHEALHNHYTQKSLSLSPG
65			

(continuación)

Secuencias de cadena pesada de longitud completa sin líder y sin K terminal		
5	159	TNX10 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (L234A, L235A)
10		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNENEFKFSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHREALHNNHYTQKS LSLSPG
15	160	TNX11 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, C229S, P238S)
20		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNENEFKFSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTSPSPAPELGGSSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMHREALHNNHYTQKS LSLSPG
25	278	TNX07 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P)
30		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNENEFKFSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPKPK KDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PFVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVVFSCSVMHREALHNNHYTQKSLSL SLG
35	279	TNX08 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, L235E)
40		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNENEFKFSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPKPK KDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PFVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVVFSCSVMHREALHNNHYTQKSLSL SLG
45	280	TNX09 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, F234A, L235A)
50		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNENEFKFSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPKPK KDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PFVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVVFSCSVMHREALHNNHYTQKSLSL SLG
55		
60		
65		

(continuación)

Secuencias de cadena pesada de longitud completa sin líder y sin K terminal		
281	TNX12 IgG1 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C229S, P238S)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPEPAPELLGGSSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPG
282	TNX13 IgG1 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, P238S)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTSPPECPAPELLGGSSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPG
283	TNX14 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (L115T, S228P, L235A)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTFTVTSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPECPAPEFAGGSPVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSL SLG
Secuencias de cadenas pesadas de longitud completa sin líder y con terminal K		
161	TNX01 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297Q)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPECPAPELLGGSPVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
162	TNX02 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (peso)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPECPAPELLGGSPVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK

(continuación)

Secuencias de cadenas pesadas de longitud completa sin líder y con terminal K		
163	TNX03 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297G)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHT CPFC PAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYGSTYRVVSVLTVTLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
164	TNX04 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVF PLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKS SKDKTHT SPPS PAPELLGGPSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQY N STYRVVSVLTVTLHQLDNLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
165	TNX05 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, L235A)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTTLVTVSS ASTKGPSVF PLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT KTYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPP CPFC PAPEFAGGSPVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVTLHQLDNLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT FPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSL SLGK
166	TNX06 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 Tipo silvestre	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT KTYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGPP CPSC PAPEF L GGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVTLHQLDNLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSL SLGK
167	VH-CH1-CH2-CH3 tipo silvestre	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGQGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTTLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTSSNFGT QTYTCNVDRKPSNTKVDKTVKCCVECPCEAPPVAGPSVFLFPPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWYVDGMEVHNAKTKPREEQFN STFRVSVLTVVHQLDNLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREP QVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSL PGK

(continuación)

Secuencias de cadenas pesadas de longitud completa sin líder y con terminal K		
5	168	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S)
10		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGGGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK
15	169	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S, N297Q)
20		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGGGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHTSPSPAPELLGGSSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKS LSLSPGK
25	170	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S, N297Q)
30		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGGGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK
35	171	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S, N297G)
40		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGGGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSSDKTHTSPSPAPELLGGSSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYQSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKS LSLSPGK
45	172	VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (ΔE216-K222 EN BISAGRA) (C226S, C229S, P238S, N297G)
50		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGGGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVTHTSPPSPAPELLGGSSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYQSTY RVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVY TLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTFPVL DSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKSLSLSPGK
55	173	TNX10 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (L234A, L235A)
60		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGGGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLTVTSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPFPAPAEAAAGGSSVFLFPP PKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTFPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNNHYTQKS LSLSPGK
65		

(continuación)

Secuencias de cadenas pesadas de longitud completa sin líder y con terminal K		
5	174	TNX11 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, C229S, P238S)
10		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGGGLEWIG EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTFLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTSPSPAPPELLGGSSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
15	284	TNX08 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, L235E)
20		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGGGLEWIG EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTFLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT KTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFEGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSL SLGK
25	285	TNX09 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, F234A, L235A)
30		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGGGLEWIG EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTFLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT KTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKP KDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSL SLGK
35	286	TNX12 IgG1 VH-CH1-CH2- CH3 IgG1 (C229S, P238S)
40		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGGGLEWIG EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTFLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPSPAPPELLGGSSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
45	287	TNX13 IgG1 VH-CH1-CH2- CH3 IgG1 (C226S, P238S)
50		QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGGGLEWIG EINPSNGDTNFNEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSSLRSEDTAVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTFLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGT QTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTSPSPAPPELLGGSSVFLFP PKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPRE EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ PREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY KTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKS LSLSPGK
55		

5
10
15
20
25
30
35
40
45
50
55
60
65

75

(continuación)

[illegible]

(continuación)

[illegible]

(continuación)

[illegible]

(continuación)

[illegible]

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada correspondientes CON LÍDER, sin K terminal

293	TNX10 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (L234A/L235A) (sin K terminal)	ATGCCCTCTGCTGCTGCTGCTGCCCTCTGCTGTGGGCCCGGTGCCCTGGCTC AGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGTGCCGAAGTGGTCAAGCCCGGCGCCTC TGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTAT ATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGCG AGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAAGTTTAAAGTC CAAGGCCACCCCTGACAGTGGATAAAGAGCGCCTCTACAGCTTACATGGAG CTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGGT CTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACCTTGGTGAC AGTGTCTTCCGCCTCTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCCC AGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGA AGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACAGTGAGCTGGAACCTCTGGCGCCCT GACCAGCGGAGTGCACACATTTCCCTGCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCCCTG TACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACCC AGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACAAAGGTGGA CAAGAAGGTGGAGGCCCAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATGCCCCCT TGTCTCTGCTCCAGAGGCTGCTGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTCAC CCAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGG TACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACCAAGCCAAGAGAGG AGCAGTACAACAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCCTGCA TCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAAG GCCCTGCCCGCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGC CTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCCTCCATCCCGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAGC GATATCGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACAATTACA AGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATTTC CAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCC TGTTCCGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATACACCCAGAAGTCAC TGCTACTGTCAACAGGA
294	TNX11 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, C229S, P238S) (sin K terminal)	ATGCCCTCTGCTGCTGCTGCTGCCCTCTGCTGTGGGCCCGGTGCCCTGGCTC AGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGTGCCGAAGTGGTCAAGCCCGGCGCCTC TGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTAT ATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGCG AGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAAGTTTAAAGTC CAAGGCCACCCCTGACAGTGGATAAAGAGCGCCTCTACAGCTTACATGGAG CTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGGT CTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACCTTGGTGAC AGTGTCTTCCGCCTCTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCCC AGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGA AGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACAGTGAGCTGGAACCTCTGGCGCCCT GACCAGCGGAGTGCACACATTTCCCTGCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCCCTG TACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACCC AGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACAAAGGTGGA CAAGAAGGTGGAGGCCCAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATGCCCCCT TCCCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGAAGCTCCGTGTTCTGTTCAC CCAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGG TACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACCAAGCCAAGAGAGG AGCAGTACAACAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCCTGCA TCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAAG GCCCTGCCCGCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGC CTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCCTCCATCCCGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAGC GATATCGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACAATTACA AGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATTTC CAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCC TGTTCCGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATACACCCAGAAGTCAC TGCTACTGTCAACAGGA

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada correspondientes CON LÍDER, sin K terminal		
295	TNX12 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C229S, P238S) (sin K terminal)	ATGCCCTCTGCTGCTGCTGCTGCCCTCTGCTGTGGGCCGGTGCCCTGGCTC AGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGTGCCGAAGTGGTCAAGCCCGGCGCCTC TGTGAAGCTGTCTTCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTAT ATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGCG AGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGTC CAAGGCCACCCGTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACAGCTTACATGGAG CTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGGACAAAGGT CTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGAC AGTGTCTTCCGCCCTTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCCC AGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGA AGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACAGTGAGCTGGAACCTCTGGCGCCCT GACCAGCGGAGTGACACATTTCTTGTCTGTCTGACGTCCAGCGGCCTG TACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGTCTTCCCTGGGCAACC AGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACAAGGTGGA CAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATGCCCCCT TCCCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGAAGCTCCGTGTTCTGTTCAC CCAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCGAGGTGAAGTTCAACTGG TACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACCAAGCCAAGAGAGG AGCAGTACAACAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGCA TCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAAG GCCCTGCCCGCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGC CTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAGC GATATCGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACAATTACA AGACCACACCCCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATT CAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCC TGTTCCGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCAC TGCTACTGTACACAGGA
296	TNX13 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, P238S) (sin K terminal)	ATGCCCTCTGCTGCTGCTGCTGCCCTCTGCTGTGGGCCGGTGCCCTGGCTC AGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGTGCCGAAGTGGTCAAGCCCGGCGCCTC TGTGAAGCTGTCTTCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTAT ATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGCG AGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGTC CAAGGCCACCCGTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACAGCTTACATGGAG CTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGGACAAAGGT CTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGAC AGTGTCTTCCGCCCTTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCCC AGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGA AGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACAGTGAGCTGGAACCTCTGGCGCCCT GACCAGCGGAGTGACACATTTCTTGTCTGTCTGACGTCCAGCGGCCTG TACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGTCTTCCCTGGGCAACC AGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACAAGGTGGA CAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATCCCCCCT TGCCCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGAAGCTCCGTGTTCTGTTCAC CCAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCGAGGTGAAGTTCAACTGG TACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACCAAGCCCAAGAGAGG AGCAGTACAACAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGCA TCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAAG GCCCTGCCCGCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGC CTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAGC GATATCGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACCAATTACA AGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATT CAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCC TGTTCCGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCAC TGCTACTGTACACAGGA

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada correspondientes CON LÍDER, sin K terminal		
297	TNX14 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (L115T, S228P, L235A) (sin K terminal)	ATGCCTCTGCTGCTGCTGCTGCCTCTGCTGTGGGCCGGTG CTCTGGCTCAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGGGCTGAAGT GGTCAAACCCGGCGCCAGCGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCT TCCGGCTACATCTTCACCAGCTACTATATGTATTGGGTGA AGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGAGAT CAACCCCTTCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAAGTTT AAGAGCAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTA CCGCTTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACAC AGCCGTGTACTATTGTACCAGGAGCGATGGCCGGAACGAC ATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACAAACAGTGACCGTGTCTT CCGCCAGCACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCTCC TTGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGC TGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACCGTGT CCTGGAATAGCGGCGCCCTGACATCCGGAGTGACACACCTT TCCAGCTGTGCTGCAGAGCTCTGGCCTGTACAGCCTGTCC AGCGTGGTGACAGTGCCCTCTTCCAGCCTGGGCACCAAGA CATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAA GGTGGATAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACCTTGC CCTCCTGTCTGCTCCAGAGTTCCCGGAGGACCTTCCG TGTTCTGTTTCCACCCAAGCCAAAGGACACACTGATGAT CTCTCGCACACCTGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTG TCCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGCTACGTGG ATGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAAGGGA GGAGCAGTTTAACTCCACATAACGGGTGGTGAGCGTGCTG ACCGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATA AGTGCAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCCCTCTTCCATCGA GAAGACAATCTCTAAGGCTAAGGGACAGCCAAGGGAGCCA CAGGTGTACACCCTGCCTCCAAGCCAGGAGGAGATGACAA AGAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTA TCCATCTGACATCGCTGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAG CCCAGAAACAATTACAAGACCACACCCCTGTGCTGGACT CTGATGGCTCCTTCTTCTGTATTCTAGACTGACCGTGGGA TAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCT GTGATGCACGAAGCACTGCACAATCATTAACACTCAGAAGA GCCTGTCACGTGCCCTGGGC

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada correspondientes CON LÍDER, sin K terminal		
180	TNX01 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297Q) (sin K terminal)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGGTGAAGCCAGGCGCCT CTGTGAAGCTGTCCTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTA TATG TATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGAAGTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAAGT CCAAGGCTACCTGACAGTGGATAAGTCCGCTCTACAGCCTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGG TCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTGGGGCCAGGGCACCTGGTGA CAGTGTCTTCCGCTTCTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCC AAGCTCTAAGTCCACCAGCGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTATTTCCTGAGCCAGTGACAGTGAAGTCTGGCGCTC TGACCTCCGGCGTGACACATTTCCAGCCGTGCTGCAGTCCAGCGGCCT GTACAGCCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACC CAGACATATATCTGCAACGTGAATCATAAGCCCTCTAATACAAAGGTGG ACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAAACACATACTTGCCCCC TTGTCTTGCAACGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCTGTTCCTCA CCCAAGCCAAAAGACACCCCTGATGATTAGTAGAACCCTGAGGTGCTG GCGTGGTCTGGAGCTGAGCCACGAGGACCCGAGGTGAAGTTCAACTG GTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAGAGAG GAGCAGTACCAGAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGC ATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAATAA GGCTCTGCCCGCCCTATCGAGAAGACCATCTCTAAGGCTAAGGGCCAG CCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCCCCTTCCCGGGACGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAG CGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCGTGAGAACAATTAC AAGACCACACCCCGTGTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATT CCAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTT TTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACACAGAAGAGC CTGTCTCTGTCCCTGGC
181	TNX02 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (peso) (sin K terminal)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCTGAGGTGGTGAAGCCAGGAGCCT CTGTGAAGCTGTCTCTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCCTTCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAAGT CCAAGGCTACCTGACAGTGGATAAGTCCGCTCTACAGCCTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGG TCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTGGGGCCAGGGCACCTGGTGA CAGTGTCTTCCGCTTCTACCAAGGGACCATCCGTGTTTCCACTGGCTCC AAGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTATTTCAGAGCCCGTGAAGTGAAGTCTGGGCTGTCTGGTG TGACAGCGGCGTGACACATTTCCAGCCGTGCTGCAGTCCAGCGGCCT GTACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCTAGCTCTTCCCTGGGCACC CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTAGCAATACAAAGGTGG ACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATGCCCCC TTGTCTGTCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTCCTCA CCCAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGAACCCTGAGGTGACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCGAGGTGAAGTTCAACTG GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACCAAGCCTAGAGAG GAGCAGTACAATAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGC ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAA GGCTCTGCCCGCCCTATCGAGAAGACCATCTCCAGGCTAAGGGCCAG CCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCCTCCATCCCGGGACGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAG CGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCGAGAACAATTAC AAGACCACACCCCTGTGTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATT CCAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTT TTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACACAGAAGAGC CTGTCTCTGTCCCGAGG

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada correspondientes CON LÍDER, sin K terminal		
5	182	TNX03 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297G) (sin K terminal)
10		CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCTGAGGTGGTGAAGCCAGGAGCCT CTGTGAAGCTGTCTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCAGCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCCTTCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGT CCAAGGCTACCCTGACAGTGGATAAGTCCGCCTCTACAGCCTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGG TCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGA CAGTGTCTTCCGCTTCTACCAAGGGACCATCCGTGTTTCCACTGGCTCC AAGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTATTTCCAGAGCCCGTGACAGTGAAGTCTGGCGCTC TGACCAGCGGCTGCACACATTTCCAGCCGTGTGCAAGTCCAGCGGCT GTACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCTTAGCTCTTCCCTGGGCACC CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTAGCAATACAAAGGTGG ACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATGCCCCC TTGTCTCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTTCCCTGTTCCA CCCCAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGAACCCCTGAGGTGACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTG GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACCAAGCCTAGAGAG GAGCAGTACGGCAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGC ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGAAGGTGTCTAATAA GGCTCTGCCCCGCCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCTAAGGGCCAG CCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAG CGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCCGAGAACAATTAC AAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATT CCAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTC TTGTTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAATCATTACACACAGAAGAGC CTGTCTCTGTCCCCAGGC
35	183	TNX04 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S) (sin K terminal)
40		CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCTGAGGTGGTGAAGCCAGGAGCCT CTGTGAAGCTGTCTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCTTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCCTTCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGT CCAAGGCTACCCTGACAGTGGATAAGTCTGCTTCCACAGCCTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGTCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGG TCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGA CAGTGTCTTCCGCTTCTACCAAGGGACCATCCGTGTTTCCACTGGCTCC AAGCTCTAAGAGCACCTCTGGAGGAACAGCCGCTCTGGGATGTCTGGTG AAGGACTATTTCCAGAGCCCGTGACAGTGTCTTGAAGTCCGGCGCTC TGACCTCTGGCGTGACACATTTCTGCCGTGTGCAAGTCCAGCGGCT GTACTCCCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACC CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAATACAAAGGTGG ACAAGAAGGTGGAGCCAAAGAGCTCTGATAAGACCCATACAAAGCCCCC TTCTCCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGCTCCAGCGTGTTCCTGTTTCCA CCCCAGCCAAAGGACACCCCTGATGATCAGCAGAACCCCCGAGGTGACAT GCGTGGTGGTGGACGTGTCTCAGGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTG GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACCAAGCCTAGAGAG GAGCAGTACAATAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGC ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGAAGGTGTCCAATAA GGCTCTGCCCCGCCCTATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCTAAGGGCCAG CCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAG CGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCCGAGAACAATTAC AAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATT CCAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTC CTGTAGCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAATCATTACACACAGAAGTCT CTGTCCCTGAGCCCTGGC

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada correspondientes CON LÍDER, sin K terminal		
184	TNX05 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, L235A) (sin K terminal)	CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGGTGAAGCCTGGAGCTA GCGTGAAGCTGTCTTGGCAAGGCTTCCGGCTACATCTTCACCTCCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCATCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTAAGA GCAAGGCTACCTTGACAGTGGATAAGTCCGCCTCTACCGCTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTACCAGG AGCGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACACTGGTGA CCGTGTCTTCCGCTAGCACAAAGGGACCATCCGTGTTCCCTCCAAAGGCC ATGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTATTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTCTTGGGAATAGCGCGCTC TGACATCCGGAGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCTCTGGCCT GTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGCAGTGCCTTCTTCCAGCCTGGGCACC AAGACATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCATCTAATACCAAGGTGG ATAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCATCTTGGCCACCATGTCCAGC TCCTGAGTTCGCTGGAGGACCATCCGTGTTCCCTGTTTCCCTCCAAAGGCC AAGGACACCTGTGATGATCTCTCGCACACAGAGGTGACCTGCGTGGTGG TGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGA TGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAGGGAGGAGCAGTTT AACTCCACATACCGGGTGGTGAGCGTGTGACCGTGTCTGCATCAGGATT GGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCC TTCTTCCATCGAGAAGACAATCTCTAAGGCTAAGGGCCAGCCTCGGGAG CCACAGGTGTACACCTGCCCCCTAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACC AGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCCGACATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACCAATTACAAGACCACA CCACCCGTGTCTGGACTCTGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGA CCGTGATAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTTAGCTGCTCTGT GATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTG TCTCTGGGC
298	TNX06 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (tipo silvestre) (sin K terminal)	CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCCAGGGCTGAAGTGGTCAAACCCGGCGCCA GCGTGAAGCTGTCTTGGCAAGGCTTCCGGCTACATCTTCACAGCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCCTCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTAAGA GCAAGGCCACCTTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACCGCTTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTACCAGG AGCGATGGCCGGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACACTGGTGA CCGTGTCTTCCGCCAGCACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCTCCGGCTCC TTGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCAGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGGAATAGCGGCGCCC TGACATCCGGAGTGCACACCTTTCCAGCTGTCTGCAGAGCTCTGGCCT GTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGCAGTGCCTCTTCCAGCCTGGGCACC AAGACATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAAGGTGG ATAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCATCTTCCCTAGCTGTCTCTGC TCCAGAGTTCTTGGGAGGACCTTCCGTGTTCTGTTTCCACCCAAGCCA AAGGACACACTGATGATCTCTCGCACACCTGAGGTGACCTGCGTGGTGG TGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGA TGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAAGGGAGGAGCAGTTT AACTCCACATACCGGGTGGTGAGCGTGTGACCGTGTCTGCATCAGGATT GGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCC CTCTTCCATCGAGAAGACAATCTCTAAGGCTAAGGGACAGCCAAGGGAG CCACAGGTGTACACCTGCCTCCAAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACC AGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCATCTGACATCGC TGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCCGAGAACAATTACAAGACCACA CCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGA CCGTGGATAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCTGT GATGCACGAGCACTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCACTG TCCCTGGGC

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada correspondientes CON LÍDER, sin K terminal		
299	TNX07 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P) (sin K terminal)	CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGGGGCTGAAAGTGGTCAAACCCGGCGCCA GCGTGAAGCTGTCTTGC AAGGCTTCCGGCTACATCTTCACCAAGCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCCTTCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTTAAGA GCAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACCGCTTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTACCAGG AGCGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACACTGGTGA CCGTGTCTTCCGCCAGCACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCTCC TTGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAATAGCGGCGCCC TGACATCCGGAGTGACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGAGCTCTGGCCT GTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCTCTTCCAGCCTGGGCACC AAGACATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAAGGTGG ATAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACCTTGCCCTCCCTGTCTCTGC TCCAGAGTTCTCTGGGAGGACCTTCCGTGTTCTGTTCACCCCAAGCCA AAGGACACACTGATGATCTCTCGCACACCTGAGGTGACCTGCGTGGTGG TGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGA TGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAAGGGAGGAGCAGTTT AACTCCACATACCGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCATCAGGATT GGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCC CTCTTCCATCGAGAAGACAATCTCTAAGGCTAAGGGACAGCCAAGGGAG CCACAGGTGTACACCTGCCTCCAAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACC AGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCATCTGACATCGC TGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCCGAGAACAATTAAGAACACACA CCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGA CCGTGGATAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCTCTGCTCTGT GATGCACGAAGCACTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCACTG TCCCTGGGC
300	TNX08 VH-CH1-CH2-CH3 (IgG4 S228P/L235E) (sin K terminal)	CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGGGGCTGAAAGTGGTCAAACCCGGCGCCA GCGTGAAGCTGTCTTGC AAGGCTTCCGGCTACATCTTCACCAAGCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCCTTCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTTAAGA GCAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACCGCTTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTACCAGG AGCGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACACTGGTGA CCGTGTCTTCCGCCAGCACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCTCC TTGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAATAGCGGCGCCC TGACATCCGGAGTGACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGAGCTCTGGCCT GTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCTCTTCCAGCCTGGGCACC AAGACATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAAGGTGG ATAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACCTTGCCCTCCCTGTCTCTGC TCCAGAGTTCTGAGGGAGGACCTTCCGTGTTCTGTTCACCCCAAGCCA AAGGACACACTGATGATCTCTCGCACACCTGAGGTGACCTGCGTGGTGG TGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGA TGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAAGGGAGGAGCAGTTT AACTCCACATACCGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCATCAGGATT GGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCC CTCTTCCATCGAGAAGACAATCTCTAAGGCTAAGGGACAGCCAAGGGAG CCACAGGTGTACACCTGCCTCCAAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACC AGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCATCTGACATCGC TGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCCGAGAACAATTAAGAACACACA CCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGA CCGTGGATAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCTCTGCTCTGT GATGCACGAAGCACTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCACTG TCCCTGGGC

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada correspondientes CON LÍDER, sin K terminal		
5	301	TNX09 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P/F234A/L235A) (sin K terminal) CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGGGCTGAAGTGGTCAAACCCGGCGCCA GCGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCTACATCTTCACCAGCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCCTTCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTAAGA GCAAGGCCACCCGTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACCGCTTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTACCAGG AGCGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACACTGGTGA CCGTGTCTTCCGCCAGCACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCTCC TTGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACCGTGTCTTGAATAGCGGCGCCC TGACATCCGGAGTGACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGAGCTCTGGCCT GTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCTCTTCCAGCCTGGGCACC AAGACATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAAGGTGG ATAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACCTTGCCCTCCCTGTCTGTC TCCAGAGGCCGCCGAGGACCTTCCGTGTTCCCTGTCTACCCCAAGCCA AAGGACACACTGATGATCTCTCGCACACCTGAGGTGACCTGCGTGGTG TGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGA TGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAGGGGAGGAGCAGTTT AACTCCACATACCGGGTGGTGAGCGTGTGACCGTGTCTGCATCAGGATT GGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCC CTCTTCCATCGAGAAGACAATCTTAAGGCTAAGGGACAGCCAGGGAG CCACAGGTGTACACCTGCCTCCAAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACC AGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCATCTGACATCGC TGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCCGAGAACAATTACAAGACCACA CCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGA CCGTGGATAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCTGT GATGCACGAAGCACTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCACTG TCCCTGGGC
35	302	TNX10 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (L234A/L235A) (sin K terminal) CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGTGCCGAAGTGGTCAAAGCCCGGCCCT CTGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCATCTAATGGCGACACCACTTCAATGAGAAGTTAAGT CCAAGGCCACCCGTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACAGCTTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGG TCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCCCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGA CAGTGTCTTCCGCCCTTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCC CAGCTCTAAGTCCACGAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACAGTGAAGTGAAGTCTGGCGCCC TGACCAGCGGAGTGCACACATTTCCTGCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCC GTACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACC CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACAAAGGTGG ACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATGCCCCC TTGTCTCTGCTCCAGAGGCTGCTGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTPCCA CCCAAGCCTAAGGACACCCGTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTCAACTG GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACCAAGCCAAGAGAG GAGCAGTACAACAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGC ATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGAAGGTGTCTAATAA GGCCCTGCCCGCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAG CCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGACGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACAATTAC AAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATT CCAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTC CTGTTCCGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCA CTGTCACTGTCAACAGGA

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada correspondientes CON LÍDER, sin K terminal		
303	TNX11 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, C229S, P238S) (sin K terminal)	CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGTGCCGAAGTGGTCAAGCCCCGGCGCCT CTGTGAAGCTGTCTCTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAAGT CCAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAAGAGCGCCTCTACAGCTTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGG TCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGA CAGTGTCTTCCGCCTCTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCC CAGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACAGTGAAGTGGAACTCTGGCGCCC TGACCAGCGGAGTGACACATTTCTGCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCCCT GTACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACC CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAAGCAATACAAAGGTGG ACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATCCCCCCC TTCCCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGAAGCTCCGTGTTCTGTTTCCA CCCAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTG GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACCAAGCCAAAGAGAG GAGCAGTACAACAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGC ATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGAAGGTGTCTAATAA GGCCCTGCCCGCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAG CCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACAATTAC AAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATT CCAAGCTGACCGTGGATAAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTC CTGTTCCGTCATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCA CTGTCACTGTCAACAGGA
304	TNX12 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C229S, P238S) (sin K terminal)	CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGTGCCGAAGTGGTCAAGCCCCGGCGCCT CTGTGAAGCTGTCTCTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAAGT CCAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAAGAGCGCCTCTACAGCTTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGG TCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGA CAGTGTCTTCCGCCTCTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCC CAGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACAGTGAAGTGGAACTCTGGCGCCC TGACCAGCGGAGTGACACATTTCTGCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCCCT GTACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACC CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAAGCAATACAAAGGTGG ACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATGCCCCC TTCCCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGAAGCTCCGTGTTTCTGTTTCCA CCCAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTG GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACCAAGCCAAAGAGAG GAGCAGTACAACAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGC ATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGAAGGTGTCTAATAA GGCCCTGCCCGCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAG CCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACAATTAC AAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATT CCAAGCTGACCGTGGATAAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTC CTGTTCCGTCATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCA CTGTCACTGTCAACAGGA

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada correspondientes CON LÍDER, sin K terminal		
305	TNX13 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, P238S) (sin K terminal)	CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGTGCCGAAGTGGTCAAGCCCGGCGCCT CTGTGAAGCTGTCTTGC AAGGCTAGCGGCTACATCTTCACTCCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGT CCAAGGCCACCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACAGCTTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGG TCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACCTGGTGA CAGTGTCTTCCGCCCTTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCC CAGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACAGTGAGCTGGAACTCTGGCGCCC TGACCAGCGGAGTGACACATTTCTGCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCCT GTACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACC CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACAAAGGTGG ACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATCCCCCCC TTGCCCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGAAGCTCCGTGTTCTGTTTCCA CCCAGCCCTAAGGACACCCTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTG GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACCAAGCCAAGAGAG GAGCAGTACAACAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGC ATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAA GGCCCTGCCCCGCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAG CCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACAAATTAC AAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATT CCAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTC CTGTTCCGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCA CTGTCACTGTACCAGGA

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada correspondientes CON LÍDER, sin K terminal		
306	TNX14 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (L115T, S228P, L235A) (sin K terminal)	CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGGGCTGAAGTGGTCAAAC CCGGCGCCAGCGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCTA CATCTTCACCAGCTACTATATGTATTGGGTGAAGCAGGCT CCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGAGATCAACCCTT CCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTTAAGAGCAA GGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACCGCTTAC ATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACAGCCGTGT ACTATTGTACCAGGAGCGATGGCCGGAACGACATGGATTCT TTGGGGCCAGGGCACAAACAGTGACCGTGTCTTCCGCCAGC ACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCTCCTTGCTCCA GGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGT GAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAAAT AGCGGGCCCTGACATCCGGAGTGCACACCTTTCCAGCTG TGCTGCAGAGCTCTGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGT GACAGTGCCCTCTTCCAGCCTGGGCACCAAGACATATAACC TGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAAGGTGGATA AGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACCTTGCCCTCCTTG TCCTGCTCCAGAGTTCGCCGGAGGACCTTCCGTGTTCTG TTTCCACCCAAAGCCAAAGGACACACTGATGATCTCTCGCA CACCTGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCAGGA GGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTG GAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAAGGGAGGAGCAGT TTAACTCCACATAACCGGGTGGTGGAGCGTGCTGACCGTGCT GCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAG GTGAGCAATAAGGGCCTGCCCTCTTCCATCGAGAAGACAA TCTCTAAGGCTAAGGGACAGCCAAGGGAGCCACAGGTGTA CACCTGCTTCCAAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACCAG GTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCATCTG ACATCGCTGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCCGAGAA CAATTACAAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCTGATGGC TCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGACCGTGGATAAGTCCC GCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCTGTGATGCA CGAAGCACTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCA CTGTCCCTGGGC

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada SIN LÍDER; con K terminal		
5	185	TNX01 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297Q) (con K terminal)
10		CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGGTGAAGCCAGGCGCCTCTGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTATATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGACTGGAGTGGATCGGC
15		GAGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGTCCAAGGCTACCGTGACAGTGGATAAGTCCGCCCTCTACAGCCTACATGGA
20		GCTGTCCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGGTCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGA
25		CAGTGTCTTCCGCTTCTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCC
30		AAGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG
		AAGGACTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGAAGTCTGGCGCTCTGACCTCCGGCGTGACACATTTCCAGCCGTGTGCAGTCCAGCGGCCCTGTACAGCCTGTCTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACC
		CAGACATATATCTGCAACGTGAATCATAAGCCCTCTAATACAAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAAACACATACTTGCCCCCTTGTCCTTGCAACGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCA
		CCCAAGCCAAAGACACCCCTGATGATTAGTAGAAGCCCTGAGTGCACATGCGTGGTCTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGTACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAGAGAG
		GAGCAGTACCAGAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAATAA
		GGCTCTGCCCGCCCCCTATCGAGAAGACCATCTCTAAGGCTAAGGGCCAGCCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCCCCTTCCCGGGACGAGCTGA
		CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACAATTAC
		AAGACCACACCACCCGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACACAGAAGAGC
		CTGTCTCTGTCCCCTGGCAAG
35	186	TNX02 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (peso) (con K terminal)
40		CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCTGAGGTGGTGAAGCCAGGAGCCTCTGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCAGCTACTATATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC
45		GAGATCAACCCCTTCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGTCCAAGGCTACCGTGACAGTGGATAAGTCCGCCCTCTACAGCCTACATGGA
50		GCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGGTCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGA
55		CAGTGTCTTCCGCTTCTACCAAGGGACCATCCGTGTTTCCACTGGCTCC
60		AAGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG
		AAGGACTATTTCCAGAGCCCGTGACAGTGAAGTCTGGCGCTCTTGACCAGCGGCGTGACACATTTCCAGCCGTGCTGCAGTCCAGCGGCCCTGTACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCTAGCTCTTCCCTGGGCACC
		CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTAGCAATACAAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATGCCCCCC
		TTGTCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCTGTGTTTCCA
		CCCAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGAACCCCTGAGGTGACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACCAAGCCTAGAGAG
		GAGCAGTACAATAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAA
		GGCTCTGCCCGCCCCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCTAAGGGCCAGCCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCCTCCATCCCGGGACGAGCTGA
		CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAGCGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCCGAGAACAATTAC
		AAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTGTTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAATCATTACACACAGAAGAGC
		CTGTCTCTGTCCCCTGGCAAG

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada SIN LÍDER; con K terminal		
5	187	TNX03 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297G) (con K terminal)
10		CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCTGAGGTGGTGAAGCCAGGAGCCTCTGTGAAGCTGTCTTCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCAGCTACTATATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC
15		GAGATCAACCCCTTCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGTCCAAGGCTACCCTGACAGTGGATAAGTCCGCCTCTACAGCCTACATGGA
20		GCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGGTCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGA
25		CAGTGTCTTCCGCTTCTACCAAGGGACCATCCGTGTTTCCACTGGCTCC
30		AAGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG
35		AAGGACTATTTCCAGAGCCCGTGACAGTGAAGTCTGGCGCTCTGACCCAGCGGCTGCACACATTTCCAGCCGTGCTGCAGTCCAGCGGCCCTGTACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCCGTAGCTCTTCCCTGGGCACC
40		CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTAGCAATACAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATGCCCCCTTGTCTCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTCTCTGTTTCCA
45		CCCAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGAACCCCTGAGGTGACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTG
50		GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAGCAGTACGGCAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGC
55		ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAAGGCTCTGCCCCCCCCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCTAAGGGCCAG
60		CCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAG
65		CGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCCAGAACCAATTAC
		AAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTGTGTTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAATCATTACACACAGAAGAGCCTGTCTCTGTCCCCAGGCAAG
35	188	TNX04 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C220S, C226S, C229S, P238S) (con K terminal)
40		CAGGTGCAGCTGGTGCAGAGCGGAGCTGAGGTGGTGAAGCCAGGAGCCTCTGTGAAGCTGTCTTCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCTTACTATATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC
45		GAGATCAACCCCTTCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGTCCAAGGCTACCCTGACAGTGGATAAGTCTGCTTCCACAGCCTACATGGA
50		GCTGTCCAGCCTGAGGTCCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGGTCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTGGGGCCAGGGCACCCTGGTGA
55		CAGTGTCTTCCGCTTCTACCAAGGGACCATCCGTGTTTCCACTGGCTCC
60		AAGCTCTAAGAGCACCTCTGGAGGAACAGCCGCTCTGGCATGTCTGGTG
65		AAGGACTATTTCCAGAGCCCGTGACAGTGTCTTGGAACTCCGGCGCTCTGACCTCTGGCGTGCACACATTTCTGCGGTGCTGCAGTCCAGCGGCCCTGTACTCCCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACC
		CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTTCCAATACAAAGTGGACAAGAAGGTGGAGCCAAAGAGCTCTGATAAGACCCATACAAGCCCCCTTCTCTCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGCTCCAGCGTGTCTCTGTTTCCA
		CCCAAGCCAAAGGACACCCCTGATGATCAGCAGAACCCCGAGGTGACATGCGTGGTGGTGGACGTGTCTCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTG
		GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGGAGCAGTACAATAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGC
		ACCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCCAATAAGGCTCTGCCCCCCCCCTATCGAGAAGACCATCAGCAAGGCTAAGGGCCAG
		CCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGACCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAG
		CGATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCCAGAACCAATTAC
		AAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCTGTAGCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAATCATTACACACAGAAGTCTCTGTCCCTGAGCCCTGGCAAG

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada SIN LÍDER; con K terminal		
5	189	TNX05 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P, L235A) (con K terminal)
10		CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGGTGAAGCCTGGAGCTA GCGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCTACATCTTCACCTCCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCATCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTTAAGA GCAAGGCTACCCTGACAGTGGATAAGTCCGCCTCTACCGCTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTACCAGG AGCGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACACTGGTGA CCGTGTCTTCCGCTAGCACAAAGGGACCATCCGTGTTCCCACTGGCTCC ATGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTATTTCCCTGAGCCAGTGACCGTGTCTTGGGAATAGCGGCGCTC TGACATCCGGAGTGCACACCTTTCCAGCCGTGCTGCAGAGCTCTGGCCT GTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCTTCTTCCAGCTGGGCACC AAGACATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCATCTAATACCAAGGTGG ATAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACTTGGCCACCATGTCCAGC TCCTGAGTTTCGCTGGAGGACCATCCGTGTTCTCTGTTTCCAAAGCCC AAGGACACCCCTGATGATCTCTCGCACACCAGAGGTGACCTGCGTGGTGG TGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGA TGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCCAGGGAGGAGCAGTTT AACTCCACATACCGGGTGGTGAGCGTGTGACCGTGTCTGCATCAGGATT GGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCC TTCTTCCATCGAGAAGACAATCTCTAAGGCTAAGGGCCAGCCTCGGGAG CCACAGGTGTACACCTTGGCCCCTAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACC AGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCTCCGACATCGC CGTGGAGTGGGAGAGCAATGGCCAGCCTGAGAACAATTACAAGACCACA CCACCCGTGTCTGGACTCTGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGA CCGTGCGATAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTTAGCTGCTCTGT GATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCCCTGAGCCTG TCTCTGGGCAAG
35	307	TNX06 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (tipo silvestre) (con K terminal)
40		CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAAGGGCTGAAGTGGTCAAACCCGGCGCCA GCGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCTACATCTTCACCAGCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCCTTCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTTAAGA GCAAGGGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACCGCTTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTACCAGG AGCGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACACTGGTGA CCGTGTCTTCCGCCAGCACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCTCC TTGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGGAATAGCGGCGCCC TGACATCCGGAGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGAGCTCTGGCCT GTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCTCTTCCAGCCTGGGCACC AAGACATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAAGGTGG ATAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACCTTGGCCTAGCTGTCTGCTG TCCAGAGTTTCTTGGGAGGACCTTCCGTGTTCTGTTTCCACCCAAGCCA AAGGACACACTGATGATCTCTCGCACACCTGAGGTGACCTGCCGTGGTGG TGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGA TGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAAGGGAGGAGCAGTTT AACTCCACATACCGGGTGGTGAGCGTGTGACCGTGTCTGCATCAGGATT GGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCC CTCTTCCATCGAGAAGACAATCTCTAAGGCTAAGGGACAGCCAAGGGAG CCACAGGTGTACACCTTGCCTCCAAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACC AGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCATCTGACATCGC TGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCCGAGAACAATTACAAGACCACA CCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGA CCGTGGATAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTTCTCTCTGCTGTGT GATGCACGAAGCACTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCACTG TCCCTGGGCAAA

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada SIN LÍDER; con K terminal		
5	308 TNX07 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P) (con K terminal)	CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGGGCTGAAGTGGTCAAACCCGGCGCCA GCGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCTACATCTTCACCAGCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCTTCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTTAAGA GCAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACCGCTTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTACCAGG 10 AGCGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACACTGGTGA CCGTGTCTTCCGCCAGCACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCTCC TTGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAAATAGCGGCGCCC 15 TGACATCCGGAGTGCACACCTTTCAGCTGTGCTGCAGAGCTCTGGCCT GTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCTTCCAGCCTGGGCACC AAGACATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAAGGTGG ATAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACCTTGCCCTCCCTGTCTCTGC 20 TCCAGAGTTCTTGGGAGGACCTTCCGTGTTCTGTCTTCCACCCAAGCCA AAGGACACACTGATGATCTCTCGCACACCTGAGGTGACCTGCCTGGTGG TGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGA TGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAAGGGAGGAGCAGTTT AACTCCACATACCGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCATCAGGATT 25 GGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCC CTCTTCCATCGAGAAGACAATCTCTAAGGCTAAGGGACAGCCAAGGGAG CCACAGGTGTACACCCTGCCTCCAAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACC AGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCATCTGACATCGC TGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCCGAGAACAATTACAAGACCACA 30 CCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGA CCGTGGATAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCTGT GATGCACGAAGCACTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCACTG TCCCTGGGCAAA
35	309 TNX08 VH-CH1-CH2-CH3 (IgG4 S228P/L235E) (con K terminal)	CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGGGCTGAAGTGGTCAAACCCGGCGCCA GCGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCTACATCTTCACCAGCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCTTCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTTAAGA GCAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACCGCTTACATGGA 40 GCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTACCAGG AGCGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACACTGGTGA CCGTGTCTTCCGCCAGCACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCTCC TTGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGAAATAGCGGCGCCC 45 TGACATCCGGAGTGCACACCTTTCAGCTGTGCTGCAGAGCTCTGGCCT GTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCTTCCAGCCTGGGCACC AAGACATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAAGGTGG ATAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACCTTGCCCTCCCTGTCTCTGC 50 TCCAGAGTTCAGGGAGGACCTTCCGTGTTCTGTCTTCCACCCAAGCCA AAGGACACACTGATGATCTCTCGCACACCTGAGGTGACCTGCGTGGTGG TGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGA TGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAAGGGAGGAGCAGTTT AACTCCACATACCGGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCTGCATCAGGATT 55 GGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCC CTCTTCCATCGAGAAGACAATCTCTAAGGCTAAGGGACAGCCAAGGGAG CCACAGGTGTACACCCTGCCTCCAAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACC AGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCATCTGACATCGC 60 TGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCCGAGAACAATTACAAGACCACA CCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGA CCGTGGATAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCTGT GATGCACGAAGCACTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCACTG 65 TCCCTGGGCAAA

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada SIN LÍDER; con K terminal		
5	310	TNX09 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P/F234A/L235A) (con K terminal)
10		CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGGGCTGAAGTGGTCAAACCCGGCGCCA GCGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCTACATCTTCACCAGCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCCTTCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTTAAGA GCAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACCGCTTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTACCAGG AGCGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGGCACACTGGTGA CCGTGTCTTCCGCCAGCACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCTCC TTGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACCGTGTCTTGGGAATAGCGGCGCCC TGACATCCGGAGTGCACACCTTTCCAGCTGTGCTGCAGAGCTCTGGCCT GTACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCTTCCAGCTGGGCACC AAGACATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAAGGTGG ATAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACCTTGCCCTCCCTGTCTGCTG TCCAGAGGCCCGCGGAGGACCTTCCGTGTTCTGTTTCCACCCAAGCCA AAGGACACACTGATGATCTCTCGCACACCTGAGGTGACCTGCGTGGTGG TGGACGTGTCCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGA TGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAAGGGAGGAGCAGTTT AACTCCACATACCCGGGTGGTGAAGCGTGTGACCGTGTCTGCATCAGGATT GGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCC CTCTTCCATCGAGAAGACAATCTCTAAGGCTAAGGGACAGCCAAGGGAG CCACAGGTGTACACCCTGCCTCCAAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACC AGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCATCTGACATCGC TGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCCGAGAACAATTACAAGACCACA CCCCCTGTGCTGGACTCTGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGA CCGTGGATAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCTGT GATGCACGAAGCACTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCACTG TCCCTGGGCAAA
35	311	TNX10 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (L234A/L235A) (con K terminal) x = A o G
40		CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGTGCCGAAGTGGTCAAGCCCGGCGCCT CTGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGT CCAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACAGCTTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGG TCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGA CAGTGTCTTCCGCCCTTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCC CAGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACAGTGAGCTGGAACCTTGGCGCCC TGACCAGCGGAGTGCACACATTTCTGCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCCCT GTACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACC CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACAAAGGTGG ACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATGCCCCC TTGTCCCTGCTCCAGAGGCTGCTGGAGGACCATCCGTGTTCTGTTTCCA CCCAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTG GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACCAAGCCAAGAGAG GAGCAGTACAACAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGC ATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAA GGCCCTGCCCCGCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAG CCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGGAACAATAC AAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATT CCAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTC CTGTTCCGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCA CTGTCACTGTCAACAGGAAAx

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada SIN LÍDER; con K terminal		
5	312	TNX11 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, C229S, P238S) (con K terminal) x = A o G
10		CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGTGCCGAAGTGGTCAAGCCCCGGCGCCTCTGTGAAGCTGTCTCGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTATATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC
15		GAGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGTCCAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAAGAGCGCCTCTACAGCTTACATGGA
20		GCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGGTCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTCTGGGGCCAGGGCAACCCTGGTGA
25		CAGTGTCTTCCGCCTCTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTTCCACTGGCTCCAGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG
30		AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACAGTGAGCTGGAACCTCTGGCGCCC
35		TGACCAGCGGAGTGCACACATTTCTGTCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCCCTGTACTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACC
40		CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACAAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATccccccc
45		TTccccCTGTCCAGAGCTGTCTGGGAGGAAGCTCCGTGTTTCTGTCTTCCA
50		CCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCGAGGTGAAGTTCAACTG
55		GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACCAAGCCAAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGC
60		ATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAA
65		GGCCCTGCCCCGCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGA
		CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAGCGATATCGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACAATTAC
		AAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGATAAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTC
		CTGTTCCGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCACTGTCACTGTCAACAGGAAAx
35	313	TNX12 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C229S, P238S) (con K terminal) x = A o G
40		CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGTGCCGAAGTGGTCAAGCCCCGGCGCCTCTGTGAAGCTGTCTCGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTATATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC
45		GAGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGTCCAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAAGAGCGCCTCTACAGCTTACATGGA
50		GCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGGTCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGA
55		CAGTGTCTTCCGCCTCTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTTCCACTGGCTCCAGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG
60		AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACAGTGAGCTGGAACCTCTGGCGCCC
65		TGACCAGCGGAGTGCACACATTTCTGTCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCCCTGTACTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACC
		CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACAAAGGTGGACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATGCCCCC
		TTCCCCCTGCTCCAGAGCTGTCTGGGAGGAAGcTCCGTGTTCTCTGTTTCCA
		CCCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACATGCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCGAGGTGAAGTTCAACTG
		GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACCAAGCCAAGAGAGGAGCAGTACAACAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGC
		ATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAA
		GGCCCTGCCCCGCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGCCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGA
		CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAGCGATATCGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACAATTAC
		AAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATTCCAAGCTGACCGTGGATAAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTC
		CTGTTCCGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCACTGTCACTGTCAACAGGAAAx

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada SIN LÍDER; con K terminal		
314	TNX13 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, P238S) (con K terminal) x = A o G	CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGTGCCGAAGTGGTCAAGCCCCGGCGCCT CTGTGAAGCTGTCTCTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTA TATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGC GAGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGT CCAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACAGCTTACATGGA GCTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGG TCTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGA CAGTGTCTTCCGCCTCTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCC CAGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTG AAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACAGTGAGCTGGAAGTCTGGCGCCC TGACCAGCGGAGTGACACATTTCTGCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCCCT GTACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACC CAGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACAAAGGTGG ACAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATCCCCCCC TTGCCCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGAAGCTCCGTGTTCTGTTCCTCA CCCAAGCCTAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACAT GCGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCGAGGTGAAGTTCAACTG GTACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACCAAGCCAAGAGAG GAGCAGTACAACAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTCTGC ATCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAA GGCCCTGCCCCTCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAG CCTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGA CCAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAG CGATATCGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACAATTAC AAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATT CCAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTC CTGTTCCGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCA CTGTCACTGTCAACAGGAAx

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada SIN LÍDER; con K terminal		
315	TNX14 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (L115T, S228P, L235A) (con K terminal)	CAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGGGCTGAAGTGGTCAAAC CCGGCGCCAGCGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCTA CATCTTCACCAGCTACTATATGTATTGGGTGAAGCAGGCT CCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGAGATCAACCCTT CCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTTAAGAGCAA GGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACCGCTTAC ATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACAGCCGTGT ACTATTGTACCAGGAGCGATGGCCGGAACGACATGGATTTC TTGGGGCCAGGGCACAACAGTGACCGTGTCTTCCGCCAGC ACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCTCCTTGCTCCA GGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGT GAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAAT AGCGGCGCCCTGACATCCGGAGTGCACACCTTTCAGCTG TGCTGCAGAGCTCTGGCCTGTACAGCCTGTCCAGCGTGGT GACAGTGCCCTCTTCCAGCCTGGGCACCAAGACATATACC TGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAAGGTGGATA AGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACCTTGCCCTCCTTG TCCTGCTCCAGAGTTCGCCGGAGGACCTTCCGTGTTCTTG TTTCCACCCAAGCCAAAGGACACACTGATGATCTCTCGCA CACCTGAGGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCAGGA GGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGATGGCGTG GAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAAGGGAGGAGCAGT TTAACTCCACATAACCGGTGGTGAGCGTGCTGACCGTGCT GCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAG GTGAGCAATAAGGGCCTGCCCTCTTCCATCGAGAAGACAA TCTCTAAGGCTAAGGGACAGCCAAGGGAGCCACAGGTGTA CACCTGCCTCCAAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACCAG GTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCATCTG ACATCGCTGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCCGAGAA CAATTACAAGACCACACCCCTGTGCTGGACTCTGATGGC TCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGACCGTGGATAAGTCCC GCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCTGTGATGCA CGAAGCACTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCA CTGTCCCTGGGCAA

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada SIN LÍDER; con K terminal		
5	190	TNX01 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (N297Q) (con K terminal)
10		ATGCCACTGCTGCTGCTGCTGCCACTGCTGTGGGCTGGCGCTCTGGCTC AGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGAGCTGAGGTGGTGAAGCCAGGCGCTC TGTGAAGCTGTCTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTAT ATGT ATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGACTGGAGTGGATCGGCG AGATCAACCCATCTAATGGCGACACCACTTCAATGAGAAGTTTAAGTC CAAGGCTACCCTGACAGTGGATAAGTCCGCCTCTACAGCCTACATGGAG CTGTCCAGCCTGAGAAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGGT CTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGAC AGTGTCTTCCGCTTCTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCCA AGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGA AGGACTATTTCCCTGAGCCAGTGACAGTGAGCTGGAACCTCTGGCGCTCT GACCTCCGGCGTGACACATTTCCAGCCGTGCTGCAGTCCAGCGGCTG TACAGCCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACCC AGACATATATCTGCAACGTGAATCATAAGCCCTCTAATACAAAGGTGGA CAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAAACACATACTTGCCCCCCT TGTCTTGCACCAGAACTGCTGGGAGGACCTAGCGTGTTCCTGTTTCCAC CCAAGCCAAAAGACACCCCTGATGATTAGTAGAACCCCTGAGGTACATG CGTGGTCTGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCGAGGTGAAGTTCAACTGG TACGTGGACGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCACAGAGG AGCAGTACCAGAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTGCA TCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGAGCAATAAG GCTCTGCCCCGCCCTATCGAGAAGACCATCTCTAAGGCTAAGGGCCAGC CTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCCCCTTCCCGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAGC GATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACAATTACA AGACCACACCACCCGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATTTC CAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCT TGTTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAATCATTACACACAGAAGAGCC TGTCTCTGTCCCCTGGCAAG
35	191	TNX02 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (peso) (con K terminal)
40		ATGCCCCCTGCTGCTGCTGCTGCCTCTGCTGTGGGCTGGCGCTCTGGCTC AGGTGCAGCTGGTGCAGTCCGGAGCTGAGGTGGTGAAGCCAGGAGCCTC TGTGAAGCTGTCTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCAGCTACTAT ATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGCG AGATCAACCCCTTCTAATGGCGACACCACTTCAATGAGAAGTTTAAGTC CAAGGCTACCCTGACAGTGGATAAGTCCGCCTCTACAGCCTACATGGAG CTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGGT CTGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGAC AGTGTCTTCCGCTTCTACCAAGGGACCATCCGTGTTTCCACTGGCTCCA AGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGA AGGACTATTTCCAGAGCCCGTGACAGTGAGCTGGAACCTCTGGCGCTCT GACCAGCGCGTGACACATTTCCAGCCGTGCTGCAGTCCAGCGGCCCTG TACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCCTAGCTCTTCCCTGGGCACCC AGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCTAGCAATACAAAGGTGGA CAAGAAGGTGGAGCCAAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATGCCCCCCT TGTCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGACCATCCGTGTTTCTGTTTCCAC CCAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATCTCCAGAACCCCTGAGGTGACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCGAGGTGAAGTTCAACTGG TACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCCAAGACCAAGCCTAGAGAGG AGCAGTACAATAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGTGCA CCAGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGCTAATAAG GCTCTGCCCCGCCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCTAAGGGCCAGC CTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCAAGC GATATCGCCGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCCGAGAACAATTACA AGACCACACCACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATTTC CAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTTTCT TGTTCCGTGATGCATGAGGCTCTGCACAATCATTACACACAGAAGAGCC TGTCTCTGTCCCAGGCAAG

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada SIN LÍDER; con K terminal

[illegible]

(continuación)

[illegible]

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada SIN LÍDER; con K terminal		
5	317	TNX07 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (S228P) (con K terminal)
10		ATGCCTCTGCTGCTGCTGCTGCCTCTGCTGTGGGCCGGTGCTCTGGCTC AGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGGGCTGAAGTGGTCAAACCCGGCGCCAG CGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCTACATCTTCACCAGCTACTAT ATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGCG AGATCAACCCCTTCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTAAGAG CAAGGCCACCCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACCGCTTACATGGAG CTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTACCAGGA GCGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACACTGGTGAC CGTGTCTTCCGCCAGCACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCTCCT TGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGA AGGACTACTTCCAGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAATAGCGGCGCCCT GACATCCGGAGTGCACACCTTTCAGCTGTGCTGCAGAGCTCTGGCCTG TACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCTTCCAGCCTGGGCACCA AGACATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAAGGTGGA TAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACCTTGCCCTCCCTGTCTGCT CCAGAGTTCTGGGAGGACCTTCCGTGTTCTGTTCACCCCAAGCCAA AGGACACACTGATGATCTCTCGCACACCTGAGGTGACCTGCGTGGTGGT GGACGTGTCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGAT GGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAAGGGAGGAGCAAGTTTA ACTCCACATACCGGGTGGTGAGCGTGTGACCGTGTGCATCAGGATTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCCC TCTTCCATCGAGAAGACAATCTCTAAGGCTAAGGGACAGCCAAGGGAGC CACAGGTGTACACCCTGCCTCCAAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACCA GGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCATCTGACATCGCT GTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCGAGAAACAATTACAAGACCACAC CCCCGTGTGCTGGACTCTGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGAC CGTGGATAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCTGTG ATGCACGAAGCACTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCACTGT CCCTGGGCAAA
35	318	TNX08 VH-CH1-CH2-CH3 (IgG4 S228P/L235E) (con K terminal)
40		ATGCCTCTGCTGCTGCTGCTGCCTCTGCTGTGGGCCGGTGCTCTGGCTC AGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGGGCTGAAGTGGTCAAACCCGGCGCCAG CGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTTCCGGCTACATCTTCACCAGCTACTAT ATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGCG AGATCAACCCCTTCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTAAGAG CAAGGCCACCCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACCGCTTACATGGAG CTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACACAGCCGTGTACTATTGTACCAGGA GCGATGGCCGGAACGACATGGATTCTTGGGGCCAGGGCACACTGGTGAC CGTGTCTTCCGCCAGCACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCTCCT TGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGA AGGACTACTTCCAGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAATAGCGGCGCCCT GACATCCGGAGTGCACACCTTTCAGCTGTGCTGCAGAGCTCTGGCCTG TACAGCCTGTCCAGCGTGGTGACAGTGCCCTCTTCCAGCCTGGGCACCA AGACATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAAGGTGGA TAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACCTTGCCCTCCCTGTCTGCT CCAGAGTTTCAGGGAGGACCTTCCGTGTTCTGTTCACCCCAAGCCAA AGGACACACTGATGATCTCTCGCACACCTGAGGTGACCTGCGTGGTGGT GGACGTGTCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGGAT GGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAAGGGAGGAGCAGTTTA ACTCCACATACCGGGTGGTGAGCGTGTGACCGTGTGCATCAGGATTG GCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCCC TCTTCCATCGAGAAGACAATCTCTAAGGCTAAGGGACAGCCAAGGGAGC CACAGGTGTACACCCTGCCTCCAAGCCAGGAGGAGATGACAAAGAACCA GGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCATCTGACATCGCT GTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAGCCGAGAAACAATTACAAGACCACAC CCCCGTGTGCTGGACTCTGATGGCTCCTTCTTTCTGTATTCTAGACTGAC CGTGGATAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCTGTG ATGCACGAAGCACTGCACAATCATTACACTCAGAAGAGCCTGTCACTGT CCCTGGGCAAA
60		
65		

(continuación)

[illegible]

(continuación)

[illegible]

(continuación)

Secuencias de ADN de cadena pesada SIN LÍDER; con K terminal		
323	TNX13 VH-CH1-CH2-CH3 IgG1 (C226S, P238S) (con K terminal) x = A o G	ATGCCTCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGCTGTGGGCCGGTGCCCTGGCTC AGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGTGCCGAAGTGGTCAAGCCCGGCGCCTC TGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCTAGCGGCTACATCTTCACCTCCTACTAT ATGTATTGGGTGAAGCAGGCTCCTGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGCG AGATCAACCCATCTAATGGCGACACCAACTTCAATGAGAAGTTTAAGTC CAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTACAGCTTACATGGAG CTGTCCAGCCTGAGGAGCGAGGACACCGCCGTGTACTATTGCACAAGGT CTGATGGCCGGAACGACATGGATTCCCTGGGGCCAGGGCACCCCTGGTGAC AGTGTCTTCCGCCCTTACCAAGGGCCCTTCCGTGTTTCCACTGGCTCCC AGCTCTAAGTCCACCAGCGGAGGAACAGCCGCTCTGGGCTGTCTGGTGA AGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACAGTGAGCTGGAAGTCTGGCGCCCT GACCAGCGGAGTGCACACATTTCCCTGCTGTGCTGCAGTCCAGCGGCCTG TACTCTCTGTCTTCCGTGGTGACCGTGCCAAGCTCTTCCCTGGGCACCC AGACATATATCTGCAACGTGAATCACAAGCCAAGCAATACAAAGGTGGA CAAGAAGGTGGAGCCCAAGTCTTGTGATAAGACCCATACATCCCCCCT TGCCCTGCTCCAGAGCTGCTGGGAGGAAGCTCCGTGTTTCTGTTTCCAC CCAAGCCTAAGGACACCCTGATGATCTCCAGAACCCAGAGGTGACATG CGTGGTGGTGGACGTGAGCCACGAGGACCCCGAGGTGAAGTTCAACTGG TACGTGGATGGCGTGGAGGTGCATAATGCTAAGACCAAGCCAAGAGAGG AGCAGTACAACAGCACCTATCGCGTGGTGTCTGTGCTGACAGTGCTGCA TCAGGACTGGCTGAACGGCAAGGAGTATAAGTGCAAGGTGTCTAATAAG GCCCTGCCCCTCCTATCGAGAAGACCATCTCCAAGGCCAAGGGCCAGC CTAGGGAGCCACAGGTGTACACACTGCCTCCATCCCGGGACGAGCTGAC CAAGAACCAGGTGAGCCTGACATGTCTGGTGAAGGGCTTCTATCCCAGC GATATCGCTGTGGAGTGGGAGTCTAATGGCCAGCCTGAGAACAATTACA AGACCACACCCCTGTGCTGGACTCCGATGGCAGCTTCTTTCTGTATTTC CAAGCTGACCGTGGATAAGAGCCGCTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCC TGTTCCGTGATGCACGAGGCACTGCACAATCATTACACCCAGAAGTCAC TGTCAGTGTACCAGGAAAx

Secuencias de ADN de cadena pesada SIN LIDER; con K terminal		
324	TNX14 VH-CH1-CH2-CH3 IgG4 (L115T, S228P, L235A) (con K terminal)	ATGCCCTCTGCTGCTGCTGCTGCCTCTGCTGTGGGGCCGGTG CTCTGGCTCAGGTCCAGCTGGTCCAGTCAGGGGCTGAAGT GGTCAAACCCGGCGCCAGCGTGAAGCTGTCTTGCAAGGCT TCCGGCTACATCTTCACCAGCTACTATATGTATTGGGTGA AGCAGGCTCCAGGACAGGGCCTGGAGTGGATCGGCGAGAT CAACCCCTTCCAATGGCGACACAACTTCAATGAGAAGTTT AAGAGCAAGGCCACCCTGACAGTGGATAAGAGCGCCTCTA CCGCTTACATGGAGCTGTCCAGCCTGAGGTCTGAGGACAC AGCCGTGTACTATTGTACCAGGAGCGATGGCCGGAACGAC ATGGATTCTTTGGGGCCAGGGCACACAGTGACCGTGTCTT CCGCCAGCACAAAGGGCCCTTCCGTGTTCCCCCTGGCTCC TTGCTCCAGGAGCACATCTGAGTCCACCGCCGCTCTGGGC TGTCTGGTGAAGGACTACTTCCCAGAGCCCGTGACCGTGT CCTGGAATAGCGGCGCCCTGACATCCGGAGTGCACACCTT TCCAGCTGTGCTGCAGAGCTCTGGCCTGTACAGCCTGTCC AGCGTGGTGACAGTGCCCTCTTCCAGCCTGGGCACCAAGA CATATACCTGCAACGTGGACCATAAGCCTTCTAATACCAA GGTGGATAAGAGAGTGGAGTCCAAGTACGGACCACCTTGC CCTCCTTGTCTCTGCTCCAGAGTTCCGCCGGAGGACCTTCCG TGTTCTCTGTTTCCACCCAAGCCAAAGGACACACTGATGAT CTCTCGCACACCTGAGGTGACCTGCCTGGTGGTGGACGTG TCCCAGGAGGACCCCGAGGTGCAGTTCAACTGGTACGTGG ATGGCGTGGAGGTGCACAATGCTAAGACCAAGCCAAGGGA GGAGCAGTTTAACTCCACATAACCGGGTGGTGAGCGTGCTG ACCGTGCTGCATCAGGATTGGCTGAACGGCAAGGAGTATA AGTGCAAGGTGAGCAATAAGGGCCTGCCCTCTTCCATCGA GAAGACAATCTCTAAGGCTAAGGGACAGCCAAGGGAGCCA CAGGTGTACACCCTGCCTCCAAGCCAGGAGAGATGACAA AGAACCAGGTGTCTCTGACCTGTCTGGTGAAGGGCTTCTA TCCATCTGACATCGCTGTGGAGTGGGAGTCCAATGGCCAG CCCGAGAACCAATTACAAGACCACACCCCTGTGCTGGACT CTGATGGCTCCTTCTTCTGTATTCTAGACTGACCGTGGA TAAGTCCCGCTGGCAGGAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCT GTGATGCAOGACACTGCACAATCATTACACTCAGAAGA GCCTGTCACTGTCCCTGGGCAA
Cadena ligera completa (VL-CL)		
195	Secuenciación de proteína VL-CL con líder	MRLPAQLLGLLMLWVSGSSGDIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQRV SSSTYSYMHWYQQKPGQPPKLLIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLT ISSVEPEDFATYYCQHSWEIPPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDE QLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS YLSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
196	Secuencia de proteína VL-CL sin líder	DIVLTQSPATLSVSPGERATISCRASQRVSSSTYSYMHWYQQKPGQPPK LLIKYASNLESGVPARFSGSGSGTDFTLTISSVEPEDFATYYCQHSWEI PPTFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPRE AKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYLSLSTLTLSKADYEKHKVY ACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(continuación)

Cadena ligera completa (VL-CL)		
5	197	Secuencia de nucleótidos de VL-CL con líder
	ATGAGGCTGCCAGCTCAGCTGCTGGGACTGCTGATGCTGTGGGTGTCCG GCTCCAGCGGGCGACATCGTGCTGACCCAGAGCCCAGCTACACTGTCCGT GTCCCCCTGGAGAGAGGGCTACCATCAGCTGCAGGGCTTCTCAGCGGGTG TCTTCCAGCACATACAGCTATATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCC AGCCCCCTAAGCTGCTGATCAAGTATGCCTCCAACCTGGAGAGCGGAGT GCCAGCTAGATTGAGCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTTACCCTGACA ATCTCTTCCGTGGAGCCTGAGGATTTGCGCCACATACTATTGCCAGCATT CTTGGGAGATCCCACCCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAA GAGAACCGTGGCCGCTCCTAGCGTGTTTCATCTTTCCTCCATCTGACGAG CAGCTGAAGTCTGGCACCGCTTCCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTTCT ACCCACGCGAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGATAACGCTCTGCAGAG CGGCAATTCTCAGGAGTCCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGATTCTACA TATTCCTGAGCTCTACCTGACACTGTCTAAGGCCGATTACGAGAAGC ACAAGGTGTATGCTTGCAGGTGACCCATCAGGGCCTGTCCAGCCCAGT GACAAAGTCCTTTAATCGCGGCGAGTGT	
10	198	Secuencia de nucleótidos VL-CL sin líder
	CATCGTGCTGACCCAGAGCCCAGCTACACTGTCCGTGTCCCCTGGAGAG AGGGCTACCATCAGCTGCAGGGCTTCTCAGCGGGTGTCTTCCAGCACAT ACAGCTATATGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGCCCCCTAAGCT GCTGATCAAGTATGCCTCCAACCTGGAGAGCGGAGTGCCAGCTAGATTTC AGCGGCTCTGGCTCCGGCACCGACTTTACCCTGACAATCTCTTCCGTGG AGCCTGAGGATTTGCGCCACATACTATTGCCAGCATTCTTGGGAGATCCC ACCCACCTTTGGCGGCGGCACAAAGCTGGAGATCAAGAGAACCGTGGCC GCTCCTAGCGTGTTTCATCTTTCCTCCATCTGACGAGCAGCTGAAGTCTG GCACCGCTTCCGTGGTGTGCCTGCTGAACAATTTCTACCCACGCGAGGC CAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGATAACGCTCTGCAGAGCGGCAATTTCTAG GAGTCCGTGACCGAGCAGGACAGCAAGGATTCTACATATTCCCTGAGCT CTACCTGACACTGTCTAAGGCCGATTACGAGAAGCACAAGGTGTATGC TTGCGAGGTGACCCATCAGGGCCTGTCCAGCCCAGTGACAAAGTCCTTT AATCGCGGCGAGTGT	
15	Enlazadores	
	199	L1
20	200	L2
	201	L3
25	202	L4
	203	L5
30	204	L6
	205	L7
35	206	L8
	207	L9
40	208	L10
	209	L11
45	210	L12
	211	L13
50	212	L14
	213	L15
55	214	L16
	215	L17
60	216	L18
	217	L19
65	218	L20
	219	L21
	220	L22
	221	L23
	222	L24
	223	L25
	325	CT-Largo

(continuación)

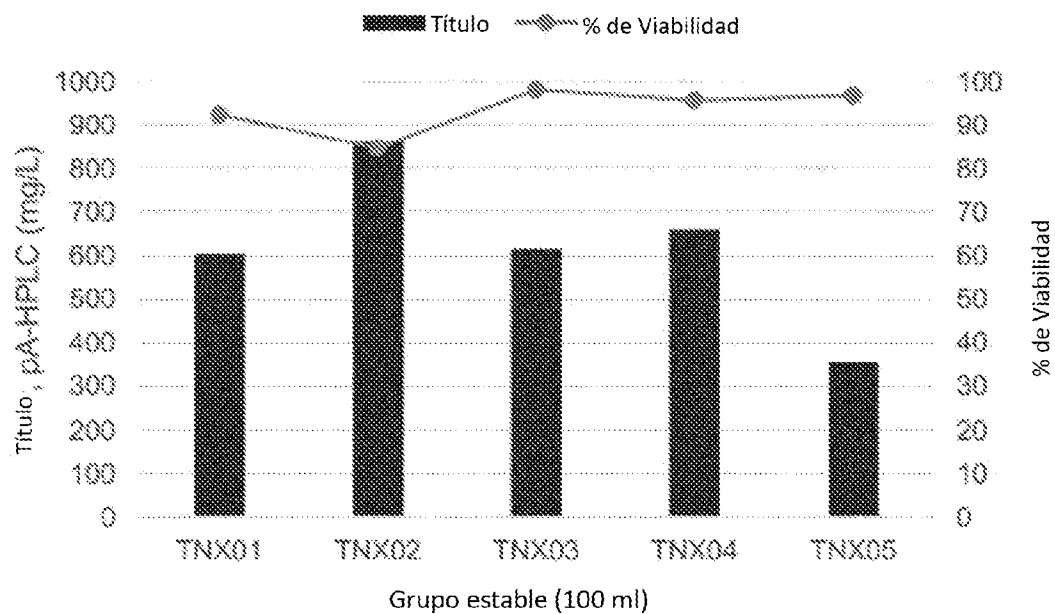
Enlazadores		
326	CT-Largo	ASTEPKSSDK
Secuencias líder		
224	Secuencia líder de cadena pesada (AA)	MPLLLLLPLWAGALA
225	Secuencia líder de cadena ligera (AA)	MRLPAQLLGLLMLWVSGSSG
226	Secuencia líder de cadena pesada (NA)	ATGCCACTGCTGCTGCTGCTGCCACTGCTGTGGGCTGGC GCTCTGGCT
227	Secuencia líder de cadena ligera (NA)	ATGAGGCTGCCAGCTCAGCTGCTGGGACTGCTGATGCTGTGGGTGTCCG GCTCCAGCGGCGA
Secuencias misc		
228	Secuencia del sitio EcoRI	GAATTCGGCCGGCCACC
229	Secuencia del sitio BamHI	TAATGAACGCGTGGATCC
230	VD-CH2-CH3 (C220S, C226S, C229S, P238S) y K terminal Ac completos	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNWELMGWARQAPGKGLEWVS GIEGPGDVITYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVK VGKDAKSDYRGQGTLLVTVSSASTEPKSSDKTHTSPESPAPPELLGGSSVF LFPFKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKG QPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK TTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
231	VD-CH2-CH3 (C220S, C226S, C229S, P238S) y K terminal Dominio Fc	APPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYCKVSNKAL PAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
232	Región Fc (C220S, C226S, C229S, P238S) y K terminal Región Fc	EPKSSDKTHTSPESPAPPELLGGSSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVV DVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVHLQDNL NGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQ VSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSKLT VDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
233	Región VH	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNWELMGWARQAPGKGLEWVS GIEGPGDVITYYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVK VGKDAKSDYRGQGTLLVTVSS
234	TNX07 IgG4 cadena pesada con K (S228P)	QVQLVQSGAEVVKPGASVKLSCKASGYIFTSYYMYWVKQAPGGGLEWIG EINPSNGDTNFEKFKSKATLTVDKSASTAYMELSLRSEDATVYYCTR SDGRNDMDSWGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLV KDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVFSSSLGT KTYTCNVDRKPSNTKVDKRVESKYGFPCPFCFAPEFLGGPSVFLFPPKPK KDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQF NSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPRE PQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYRTT FPVLDSDGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSL SLGK
235	TNX07 IgG4 región Fc (S228P) y K terminal	ESKYGFPCPFCFAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVS QEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDNLNG KEYCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSL TCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSRLTVDK SRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK
236	IgG4 región Fc y K terminal Dominio Fc	APPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYV DGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVHLQDNLNGKEYCKVSNKGL PSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSEFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
Tenga en cuenta que x = A o G en los listados anteriores		

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado que se une a CD154, que comprende un dominio variable humanizado, en donde el dominio variable comprende una región variable de cadena pesada (VH) y una región variable de cadena ligera (VL), y en donde la VH se une operativamente a una región Fc humana derivada de IgG4 y que comprende modificaciones de aminoácidos S228P y L235A; en donde la VH comprende
 - (a) una CDR1 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 57,
 - (b) una CDR2 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 58, y
 - (c) una CDR3 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 59, yen donde la VL comprende
 - (a) una CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 60,
 - (a) una CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 61, y
 - (c) una CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 62.
2. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde la región Fc comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 23 o 42.
3. El anticuerpo de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, en donde la cadena pesada comprende una región constante que comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 95 o 109.
4. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en donde la VH comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 64.
5. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en donde la VL comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 66.
6. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 151 o 165.
7. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en donde la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 196.
8. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, en donde la cadena ligera comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 196 y una cadena pesada comprende la secuencia de aminoácidos de las SEQ ID NO: 151 o 165.
9. Una molécula de ácido nucleico aislada que codifica una cadena ligera y una cadena pesada de un anticuerpo anti-CD154 de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8.
10. Una primera molécula de ácido nucleico aislada y una segunda molécula de ácido nucleico aislada, en donde la primera y la segunda moléculas de ácido nucleico aisladas codifican, respectivamente, una cadena pesada y una cadena ligera de un anticuerpo anti-CD154 de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8.
11. Un vector que comprende la molécula de ácido nucleico aislada de acuerdo con la reivindicación 9.
12. Un primer vector y un segundo vector, en donde el primer vector comprende la primera molécula de ácido nucleico aislada de acuerdo con la reivindicación 10, y el segundo vector comprende la segunda molécula de ácido nucleico aislada de acuerdo con la reivindicación 10.
13. Una célula transformada que comprende la molécula de ácido nucleico aislada de acuerdo con la reivindicación 9, la primera y segunda moléculas de ácido nucleico aisladas de acuerdo con la reivindicación 10, el vector de acuerdo con la reivindicación 11, o el primer y segundo vectores de acuerdo con la reivindicación 12.
14. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-CD154 de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 y un portador farmacéuticamente aceptable.
15. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 14 para el uso en la inhibición de una respuesta inmunitaria en un sujeto.
16. El anticuerpo o la composición farmacéutica para el uso de acuerdo con la reivindicación 15, en donde el sujeto ha recibido o recibirá un trasplante de célula, tejido u órgano.

17. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 14 para el uso en el tratamiento o prevención de un rechazo de trasplante en el sujeto.
- 5 18. El anticuerpo o composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 17, en donde el rechazo de trasplante es un rechazo agudo o crónico del injerto en un receptor de injerto de un trasplante alogénico o xenotrasplante.
19. El anticuerpo o composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el método promueve una supervivencia del injerto a largo plazo de la célula, tejido u órgano injertado, en donde dicha supervivencia del injerto a largo plazo se selecciona del grupo que consiste en
- 10 (a) al menos 6 meses después del trasplante;
(b) al menos 1 año después del trasplante; y
(c) al menos 5 años después del trasplante.
- 15 20. El anticuerpo o composición para el uso de una cualquiera de las reivindicaciones 17-19, en donde el rechazo de trasplante se asocia con un trasplante de células hematopoyéticas o de médula ósea, un trasplante alogénico de células de los islotes pancreáticos, enfermedad de injerto contra huésped o un trasplante de órgano sólido seleccionado del grupo que consiste en un trasplante de corazón, un trasplante de riñón, un trasplante de hígado, un trasplante de pulmón, un trasplante de páncreas, un trasplante de riñón-páncreas, un trasplante de corazón-pulmón, un trasplante de riñón-corazón, un trasplante de riñón-corazón-páncreas, un trasplante de corazón-hígado, un trasplante de corazón-hígado-riñón, un trasplante de corazón-pulmón-riñón, un trasplante de corazón-pulmón-hígado, un trasplante de pulmón-riñón, un trasplante de pulmón-hígado, un trasplante de hígado-intestinos-páncreas, un trasplante de intestinos-páncreas, un trasplante de hígado-riñón-intestinos-páncreas y un trasplante de riñón-intestinos.
- 20 21. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 14 para el uso en la inducción de quimerismo hematopoyético en un receptor de trasplante mediante el trasplante de células madre hematopoyéticas en el receptor.
- 25 22. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1-8 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 14 para el uso en la inducción de tolerancia central en un receptor de trasplante mediante el trasplante de células madre hematopoyéticas en el receptor y el trasplante de un tejido del donante en el receptor, en donde las células madre hematopoyéticas producen células inmunitarias que son tolerantes al tejido del donante.
- 30 23. El anticuerpo o composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 17, en donde el trasplante es un xenotrasplante.
- 35 24. El anticuerpo o composición para el uso de acuerdo con la reivindicación 23, en donde el rechazo del xenotrasplante se asocia con un trasplante de órgano sólido seleccionado del grupo que consiste en un trasplante de corazón, un trasplante de riñón, un trasplante de hígado, un trasplante de pulmón, un trasplante de páncreas, un trasplante de riñón-páncreas, un trasplante de corazón-pulmón, un trasplante de riñón-corazón, un trasplante de riñón-corazón-páncreas, un trasplante de corazón-hígado, un trasplante de corazón-hígado-riñón, un trasplante de corazón-pulmón-riñón, un trasplante de corazón-pulmón-hígado, un trasplante de pulmón-riñón, un trasplante de pulmón-hígado, un trasplante de hígado-intestinos-páncreas, un trasplante de intestinos-páncreas, un trasplante de hígado-riñón-intestinos-páncreas y un trasplante de riñón-intestinos.
- 40 45 50 55 60 65

Figura 1



TNX01_HumlgG1_HC_N297Q
 TNX02_HumlgG1_HC_peso
 TNX03_HumlgG1_HC_N297G
 TNX04_HumlgG1_HC_Fc silente(C220S, C226S, C229S, P238S)
 TNX05_HumlgG4_HC_S228P, L235A

Figura 2

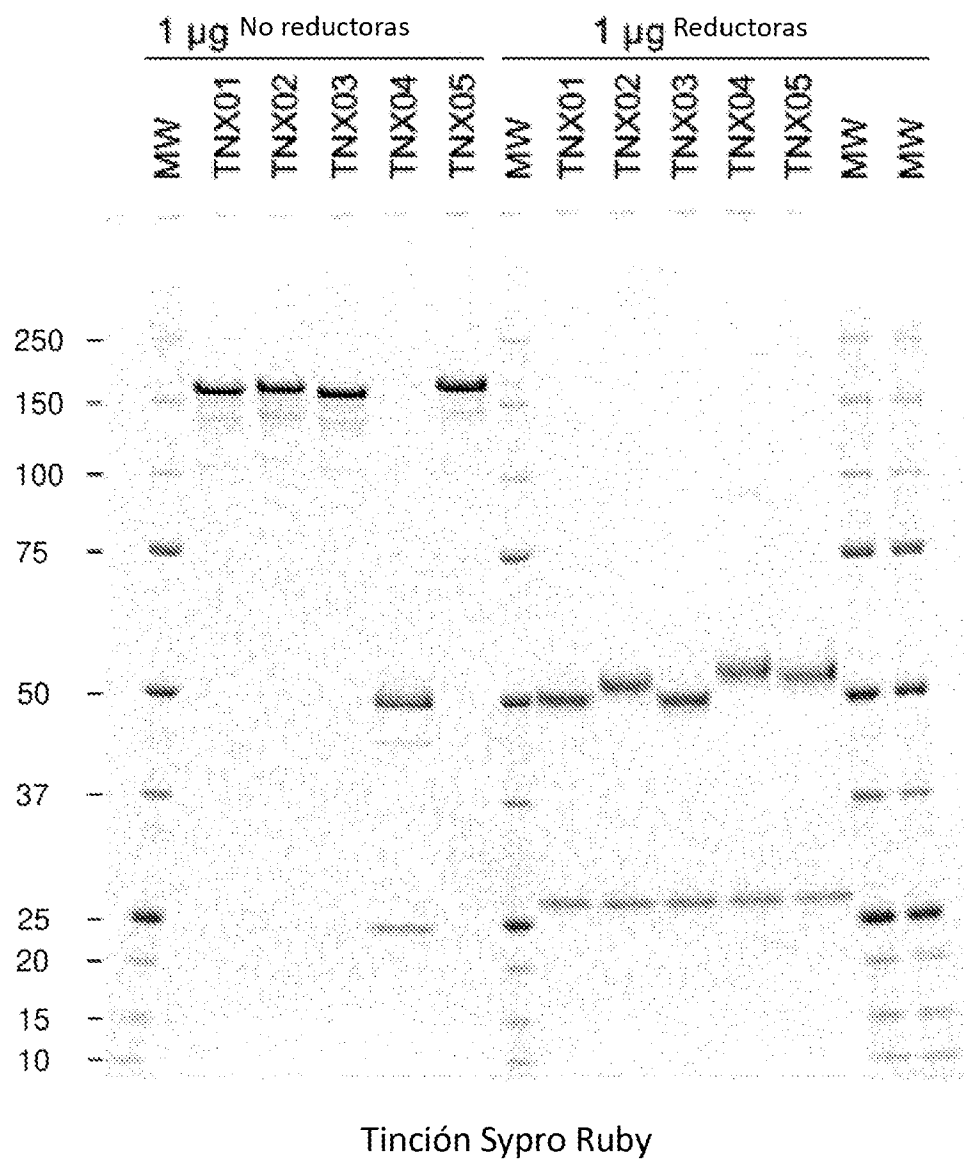


Figura 3

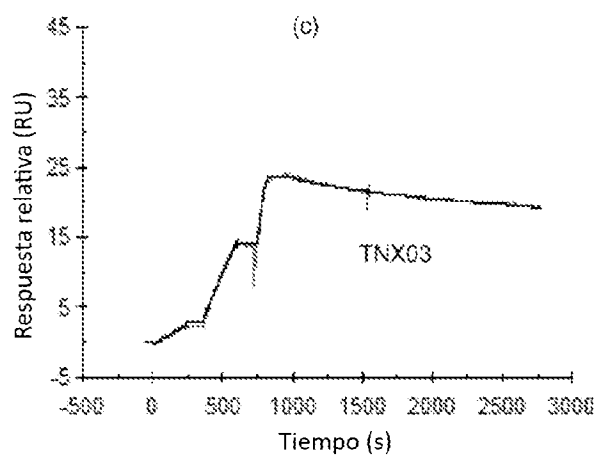
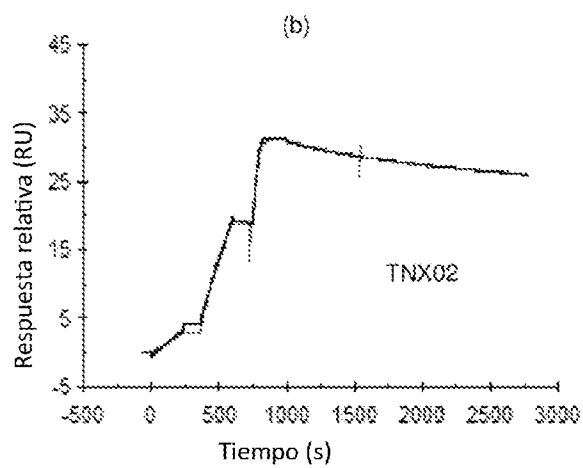
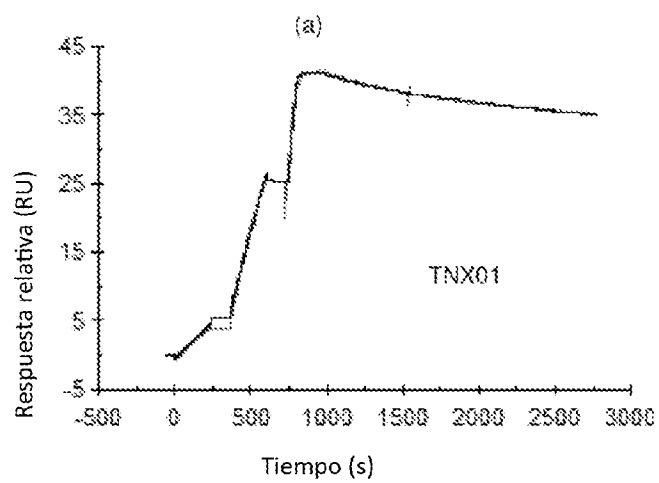
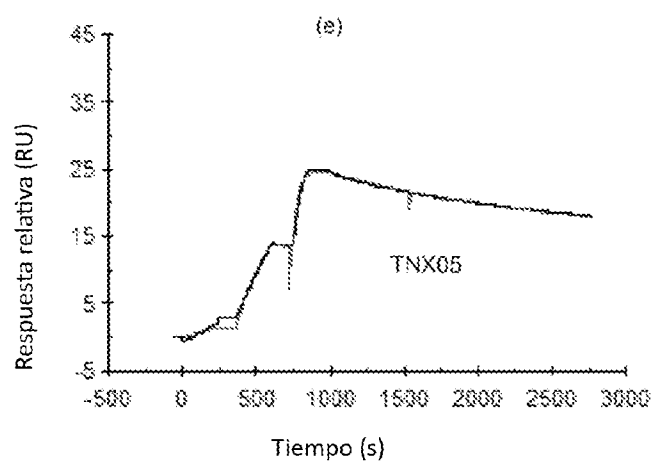
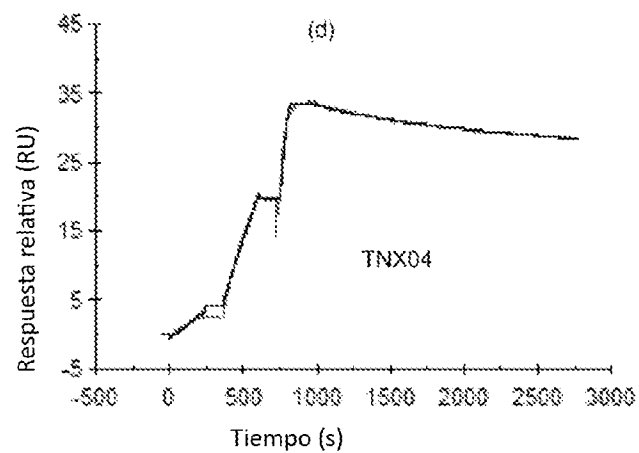


Figura 3



(f)

	K_a (1/Ms)	K_d (1/s)	K_D (M)
TNX01	2,683E+7	2,040E-4	7,603E-12
TNX02	2,379E+7	2,322E-4	9,759E-12
TNX03	2,147E+7	2,666E-4	1,242E-11
TNX04	2,597E+7	2,245E-4	8,643E-12
TNX05	1,377E+7	4,189E-4	3,043E-11

Figura 4: Evaluación de la unión de anti-CD154 CD40L mediante SPR

(a)

AcM	KD Prom (M)	SD	Veces más débil
TNX01	8,00E-12	5,E-13	0,80
TNX02	1,00E-11	1,E-12	1,00
TNX03	1,3E-11	1,E-12	1,30
TNX04	9,5E-12	1,E-12	0,95
TNX05	2,3E-11	8,E-12	2,30

TNX01_HumIgG1_HC_N297Q
 TNX02_HumIgG1_HC_peso
 TNX03_HumIgG1_HC_N297G
 TNX04_HumIgG1_HC_Fc silente(C220S, C226S, C229S, P238S)
 TNX05_HumIgG4_HC_S228P, L235A

(b)

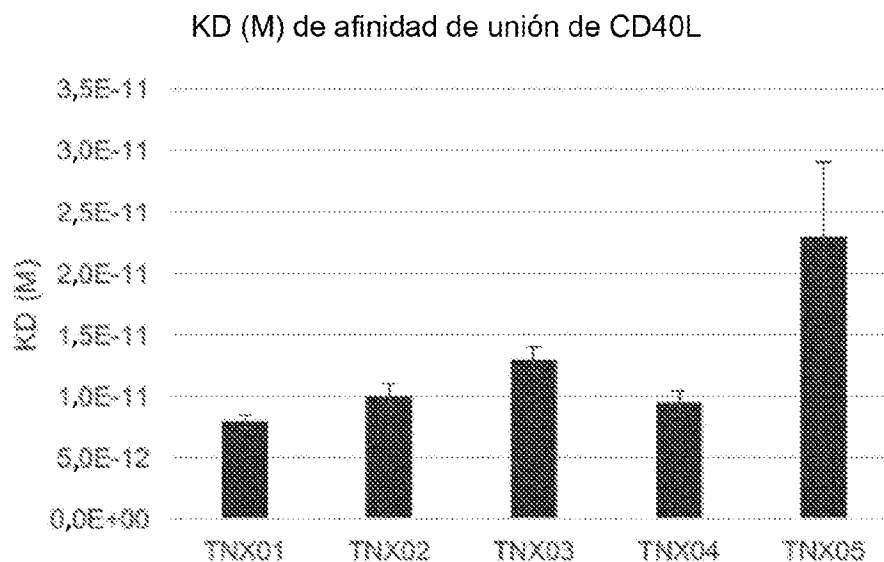


Figura 5

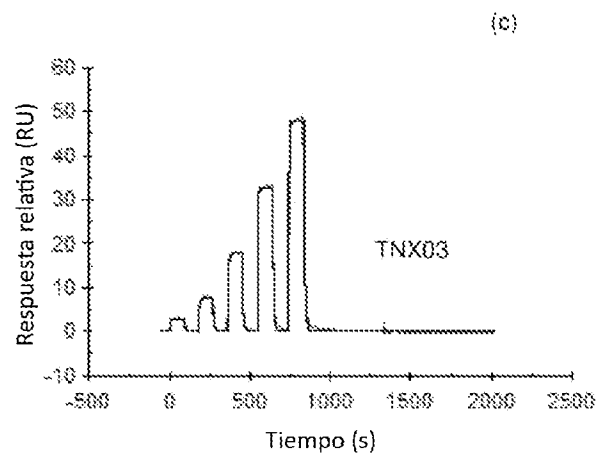
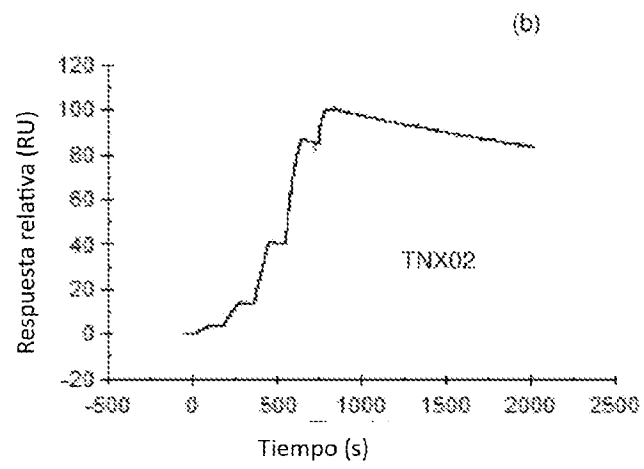
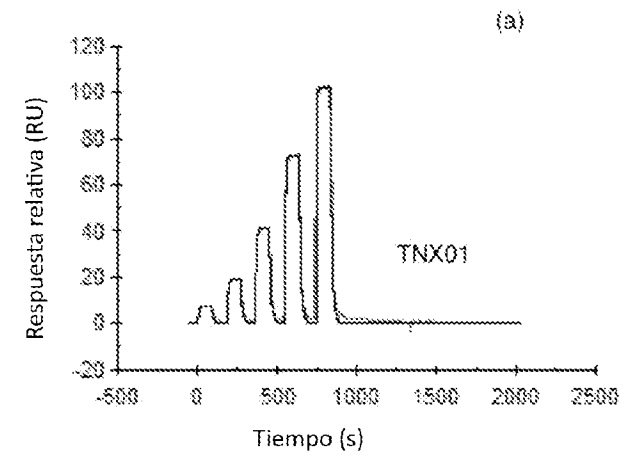
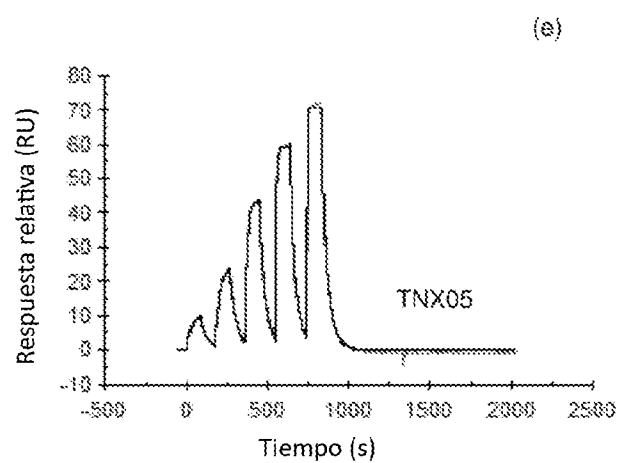
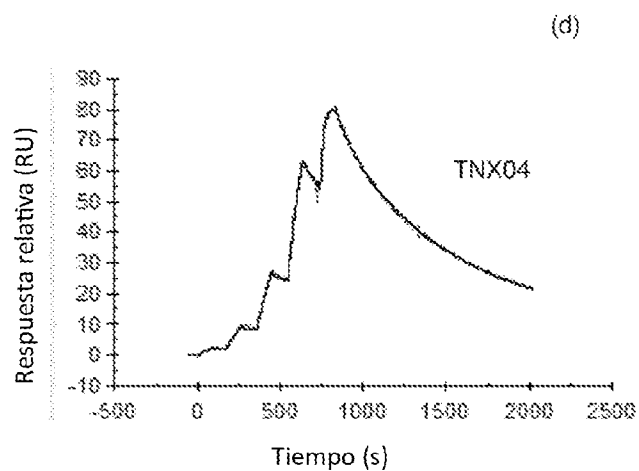


Figura 5



(f)

	Ka (1/Ms)	Kd (1/s)	KD (M)
TNX01	1,539E+6	0,08620	5,601E-8
TNX02	5,934E+6	1,710E-4	2,882E-11
TNX03	1,583E+6	0,1422	8,980E-8
TNX04	7,028E+6	0,002172	3,090E-10
TNX05	5,803E+6	0,05108	8,803E-9

Figura 6: Evaluación de la unión de FcγRIa (CD64) a anti-CD154 mediante SPR

(a)

AcM	KD Prom (M)	SD	Veces más débil TNX02
TNX01	7,85E-08	1,E-09	2602
TNX02	2,94E-11	7,E-13	1
TNX03	9,2E-08	1,E-09	3121
TNX04	3,3E-10	1,E-11	11
TNX05	8,7E-09	3,E-10	297

TNX01_HumlgG1_HC_N297Q
 TNX02_HumlgG1_HC_peso
 TNX03_HumlgG1_HC_N297G
 TNX04_HumlgG1_HC_Fc silente(C220S, C226S, C229S, P238S)
 TNX05_HumlgG4_HC_S228P, L235A

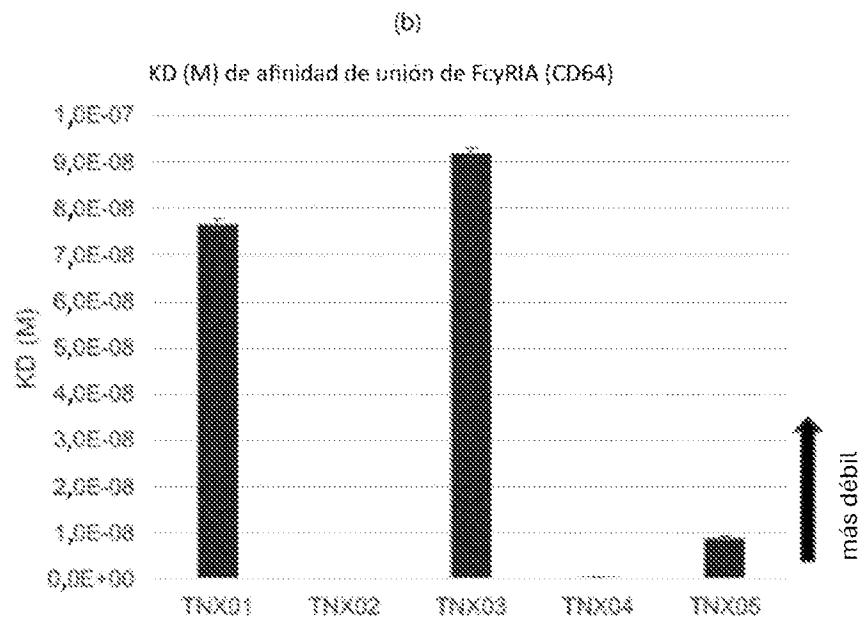


Figura 7: Evaluación de la unión de FcγR de baja afinidad a anti-CD154 mediante SPR

(a)

KD Media (M)	TNX01	TNX02	TNX03	TNX04	TNX05
CD16aF	>> 5E-06	1,7E-06	>> 5E-06	>> 5E-06	8,115E-06
CD16aV	>> 5E-06	3,2E-07	>> 5E-06	1,87E-05	6,04E-06
CD32aH	>> 12E-06	5,0E-07	>> 12E-06	3,66E-05	7,17E-06
CD32bF	>> 12E-06	9,1E-07	>> 12E-06	1,8E-05	4,9E-06

TNX01_HumlgG1_HC_N297Q
 TNX02_HumlgG1_HC_peso
 TNX03_HumlgG1_HC_N297G
 TNX04_HumlgG1_HC_Fc silente(C220S, C226S, C229S, P238S)
 TNX05_HumlgG4_HC_S228P, L235A

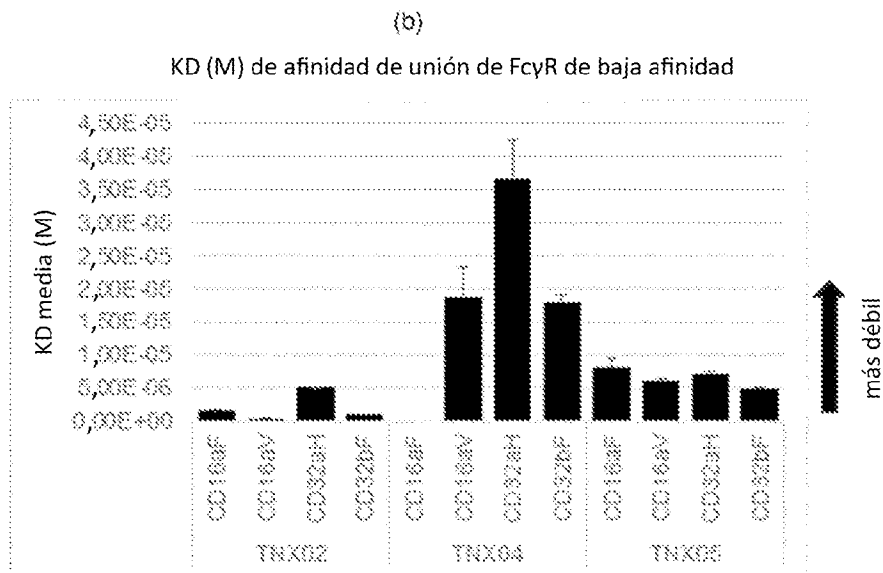
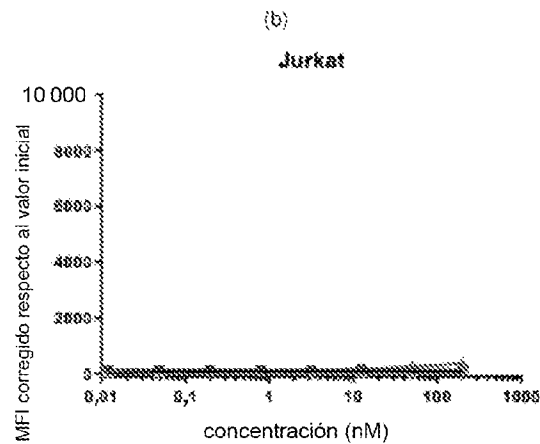
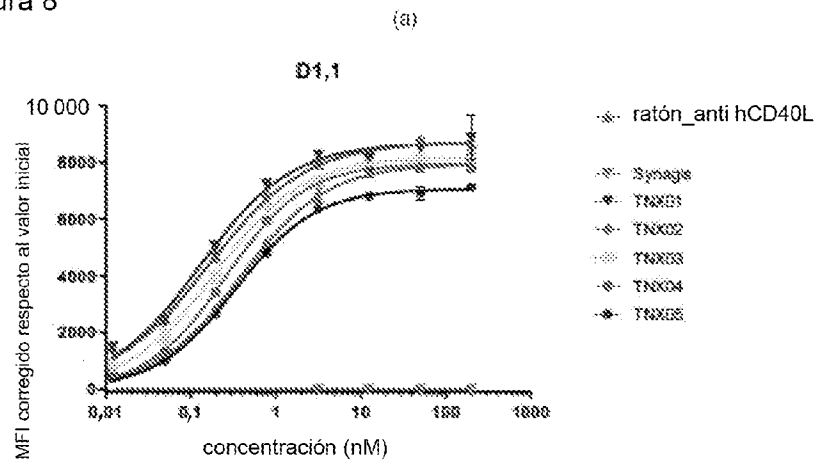


Figura 8



(c)

Unión específica de un sitio con valores de ajuste óptimo de pendiente de Hill	Anti hCD40L de ratón	TNX01	TNX02	TNX03	TNX04	TNX05	Synagis
B _{máx}	7953	8693	8730	8191	7967	7075	Sin unión detectable
H	0,855	0,811	0,755	0,846	0,941	0,927	
K _d aparente	0,390	0,128	0,162	0,195	0,261	0,338	

Figura 9

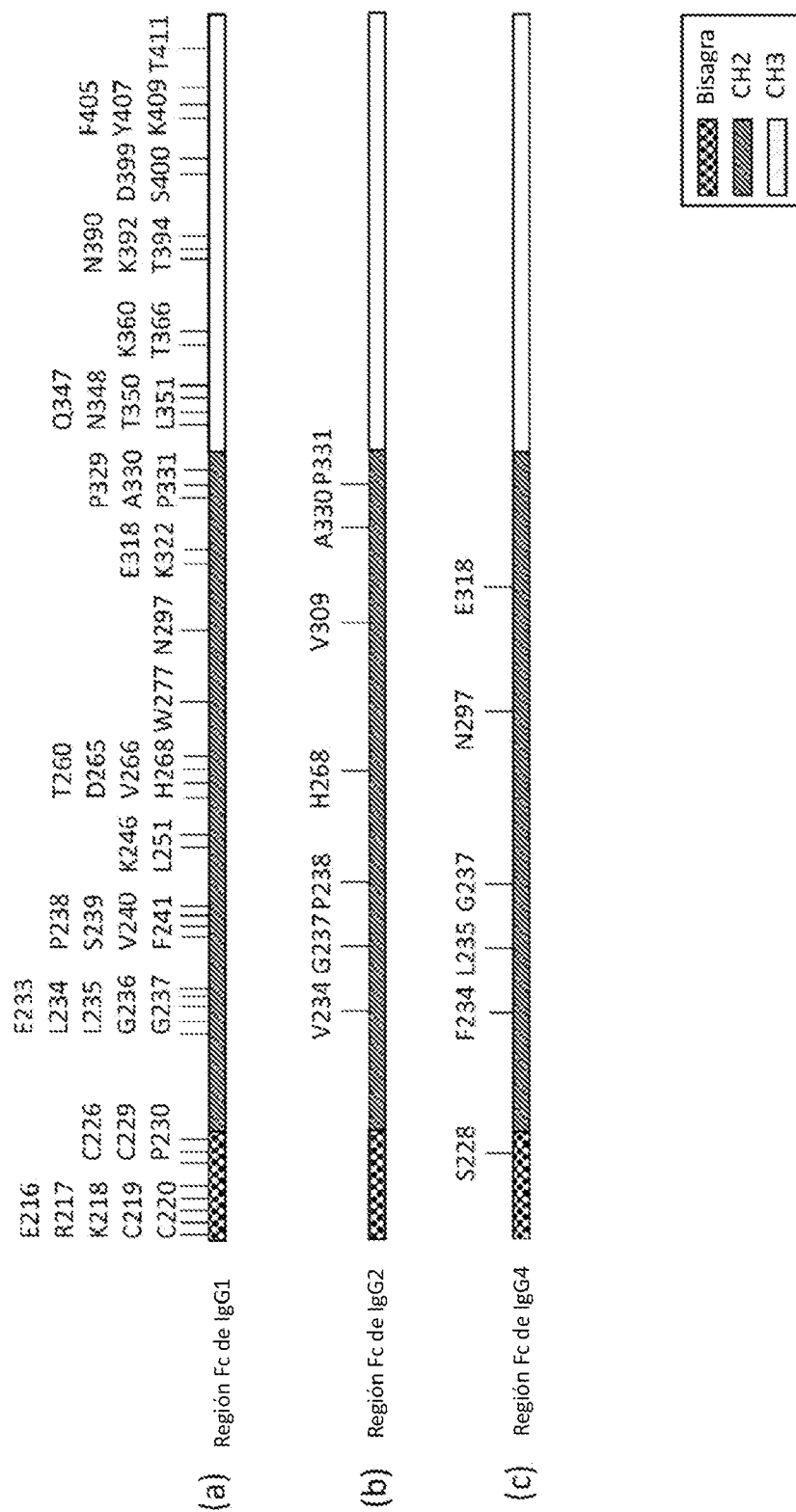


Figura 10

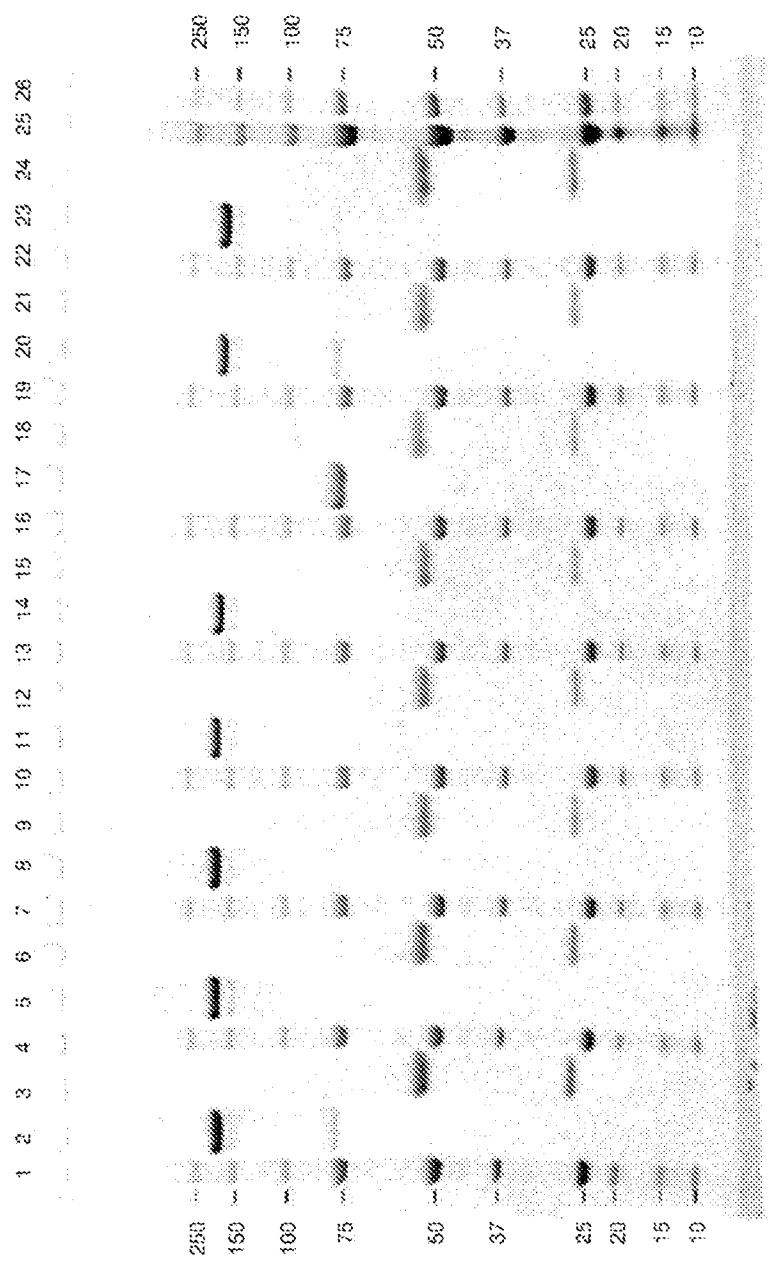


Figura 11: Puntuación de comparabilidad de SPR

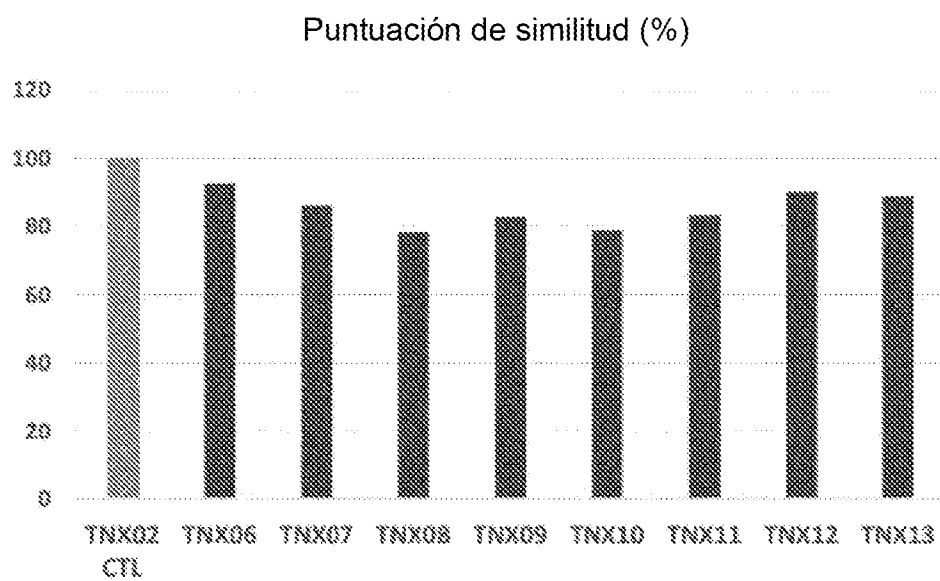


Figura 12: Evaluación de la unión de FcγRIA (CD64) a anti-CD154 mediante SPR

(a)

AcM	KD Prom (M)	SD	Veces más débil TNX02
TNX02	3,91E-11	1,9E-12	1
TNX06	2,85E-10	7E-12	7
TNX07	2,53E-10	4E-12	6
TNX08	1,03E-07	1,1E-11	2638
TNX09	1,47E-07	1E-09	3764
TNX10	6,87E-08	4,5E-10	1758
TNX11	4,79E-10	1E-12	12
TNX12	2,59E-10	8E-12	7
TNX13	2,22E-10	6E-12	6

TNX02_HumlgG1_HC_peso
 TNX06_HumlgG4_HC_peso
 TNX07_HumlgG4_HC_S228P
 TNX08_HumlgG1_HC_S228P,L235E
 TNX09_HumlgG1_HC_S228P,F234A,L235A
 TNX10_HumlgG1_HC_L234A,L235A
 TNX12_HumlgG1_HC_C229S,P238S
 TNX13_HumlgG1_HC_C226S,P238S

Figura 12: Evaluación de la unión de FcγRIA (CD64) a anti-CD154 mediante SPR

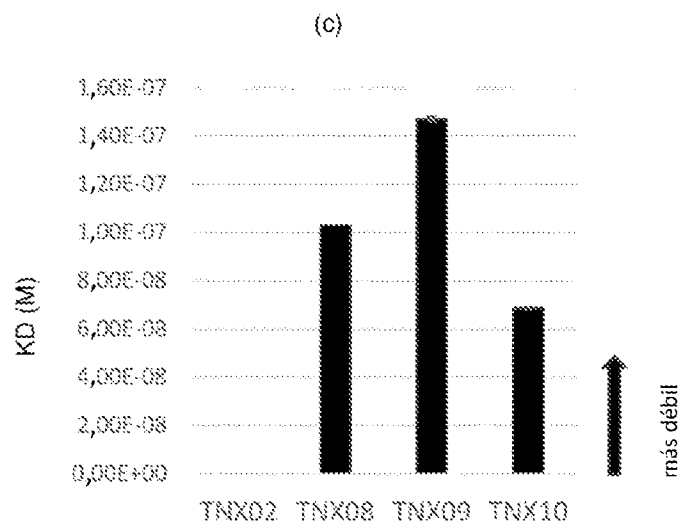
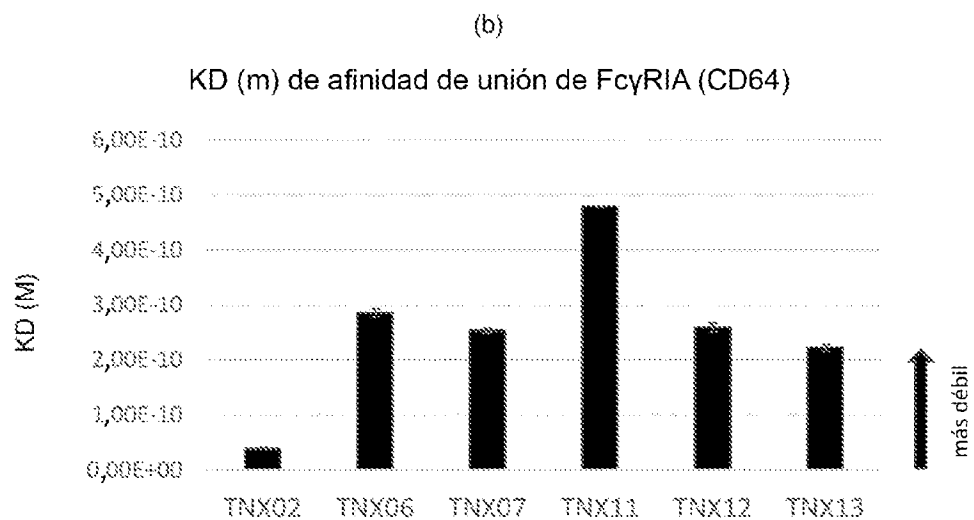


Figura 13(a): Evaluación de la unión de FcγR de baja afinidad a anti-CD154 mediante SPR

KD de unión (M)	TNX02	TNX06	TNX07	TNX08	TNX09	TNX10	TNX11	TNX12	TNX13
CD16F	1,81E-06	3,17E-06	3,66E-06	4,44E-06	>>5 μM	>>5 μM	>>5 μM	>>5 μM	>>5 μM
CD16v	3,33E-07	2,09E-06	3,01E-06	3,56E-06	3,77E-06	4,63E-06	>>5 μM	>>5 μM	>>5 μM
CD32aH	5,25E-07	3,19E-06	3,01E-06	9,03E-06	>>12 μM	>>12 μM	>>12 μM	>>12 μM	8,95E-06
CD32bF	1,03E-06	2,53E-06	2,45E-06	4,20E-06	>>12 μM	>>12 μM	>>12 μM	8,41E-06	5,84E-06

TNX02_HumIgG1_HC_peso

TNX06_HumIgG4_HC_peso

TNX07_HumIgG4_HC_S228P

TNX08_HumIgG1_HC_S228P.L235E

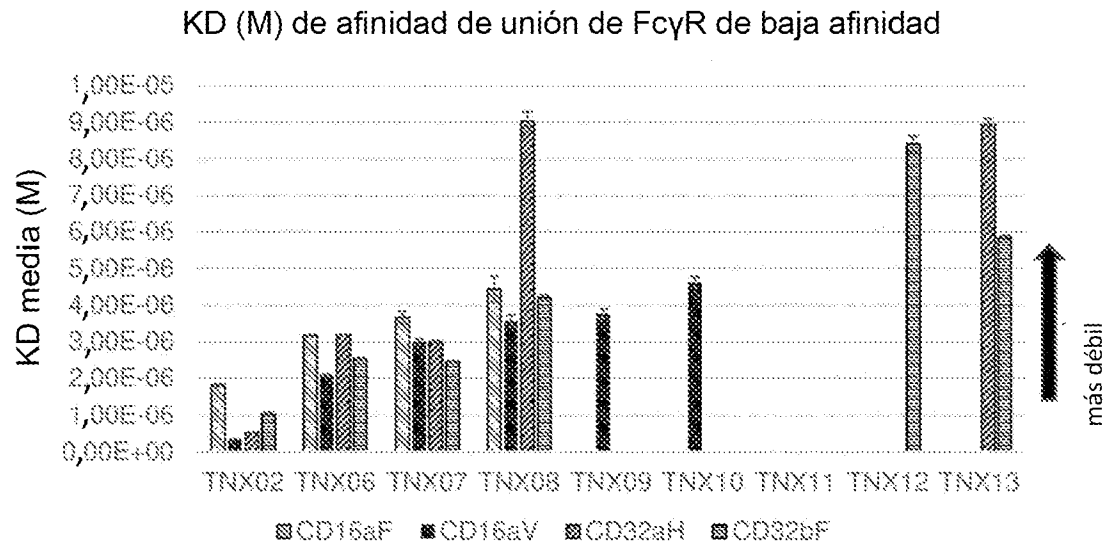
TNX09_HumIgG1_HC_S228P.F234A.L235A

TNX10_HumIgG1_HC.L234A.L235A

TNX12_HumIgG1_HC.C229S.P238S

TNX13_HumIgG1_HC.C226S.P238S

Figura 13(b)



* Nota: Ningún dato (0M KD)
indica que no se detectó unión en
las concentraciones de FcγR
analizadas

Figura 14

