



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



⑪ Número de publicación: **2 401 536**

⑮ Int. Cl.:

C07K 16/24 (2006.01)
A61P 11/00 (2006.01)
A61P 19/02 (2006.01)
A61P 17/06 (2006.01)
A61P 35/02 (2006.01)

⑫

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

⑯ Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.11.2008 E 08848696 (4)**

⑯ Fecha y número de publicación de la concesión europea: **26.12.2012 EP 2215119**

⑭ Título: **Anticuerpos monoclonales que se unen a HGM-CSF y composiciones medicinales que los comprenden**

⑯ Prioridad:

**13.11.2007 JP 2007294945
14.02.2008 WO PCT/JP2008/052471**

⑮ Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
22.04.2013

⑮ Titular/es:

**EVEC INC. (50.0%)
SHOWA BUILDING ODORI W5 CHUO-KU
SAPPORO 060-0042, JP y
BOEHRINGER INGELHEIM INTERNATIONAL
GMBH (50.0%)**

⑯ Inventor/es:

**TAKADA, KENZO;
NAKAJIMA, KANTOU;
KISTLER, BARBARA y
PARK, JOHN**

⑯ Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 401 536 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 monoclonales que se unen a hGM-CSF y composiciones medicinales que los comprenden.

Campo de la invención

5 La presente invención se refiere a anticuerpos monoclonales que se unen al factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos humanos (también mencionado como "hGM-CSF") y neutralizan la actividad de hGM-CSF, a composiciones que incluyen uno o varios de tales anticuerpos monoclonales y a métodos en los que se usan estos anticuerpos monoclonales y composiciones.

Antecedentes de la invención

10 El factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF) se identificó en un factor humoral que promueve la proliferación de las células progenitoras de granulocitos y macrófagos de la médula ósea y promueve la formación de colonias de granulocitos y macrófagos in vitro.

15 Ahora se sabe que GM-CSF es un factor estimulante para un amplio rango de tipos celulares. Induce la diferenciación y la proliferación de glóbulos de linaje de granulocitos-macrófagos, aumenta las funciones de células que presentan antígenos, mantiene las funciones de algunos tipos de células epiteliales e induce las funciones de los macrófagos alveolares (por ejemplo, mejora el catabolismo de los tensioactivos, la función bactericida y la expresión del receptor Fc). The Cytokine Handbook, 4th edition, Thomson, A. et al. (eds.), Academic Press, 2003.

Se sabe que GM-CSF causa diversas enfermedades, incluyendo 1) enfermedades alérgicas tales como asma, atopia y polinosis, 2) rechazo al injerto y enfermedad de injerto versus huésped (GVHD) y 3) enfermedades autoinmunes, tal como artritis reumatoidea.

20 25 Por ejemplo, el GM-CSF humano (hGM-CSF) se sobreexpresa en los pulmones de sujetos alérgicos y en las articulaciones de pacientes con artritis reumatoidea; el mARN de hGM-CSF se sobreexpresa en la piel de sujetos alérgicos. También se informó que la supervivencia de los monocitos, que son células que inducen inflamación en dermatitis atópica, es mejorada por la producción de GM-CSF. Bratton, D.L. et al., Granulocyte macrophages colony-stimulating factor contributes to enhanced monocyte survival in chronic atopic dermatitis. J. Clin. Invest., 95: 211-218, 1995.

Además, se mostró que el GM-CSF estimula la proliferación de células leucémicas. Por ende, se considera que el GM-CSF es un factor que causa leucemia.

30 Sería de utilidad tener enfoques para tratar enfermedades y patologías causadas por el GM-CSF humano. Un enfoque para la terapia de estas enfermedades y condiciones patológicas consiste en unir el hGM-CSF e inhibir su actividad biológica. Esto se puede realizar, por ejemplo, administrando anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF que tienen gran afinidad y suficiente actividad neutralizante contra hGM-CSF pero no inducen una reacción inmunológica.

35 Sin embargo, los anticuerpos inhibidores de hGM-CSF informaron hasta ahora que no tienen suficiente actividad neutralizante contra hGM-CSF. Además, parece muy probable que los anticuerpos monoclonales de anti-hGM-CSF disponibles en la actualidad induzcan una respuesta inmune no deseada en los receptores. El anticuerpo polyclonal y el anticuerpo monoclonal se derivan, en general, de animales experimentales, tales como ratones, conejos y caprinos. Sin embargo, los anticuerpos obtenidos tienen una secuencia característica del tipo de animales usados para su producción. Si se administran a seres humanos, el sistema inmune humano puede reconocer los anticuerpos como extraños y entonces, se puede causar la respuesta del anticuerpo humano antianimal (es decir, el anticuerpo produce su propio anticuerpo).

40 Además, la administración a largo plazo es necesaria para el tratamiento de estas enfermedades y pueden surgir problemas como un resultado, como problemas de seguridad que pueden ser causados por pequeñas cantidades de impurezas en medicinas administradas. Los anticuerpos con mayor actividad neutralizante que los disponibles actualmente serán valiosos como agentes terapéuticos desde el punto de vista de la efectividad, la seguridad y el gasto médico.

45 **Síntesis de la invención**

La invención se basa al menos en parte en el desarrollo de los inventores de determinados anticuerpos monoclonales antihumanos GM-CSF que se caracterizan por su actividad neutralizante extremadamente alta hacia el hGM-CSF. Sorprendentemente, la actividad neutralizante de estos anticuerpos es mayor que lo que se podría esperar en base a sus afinidades de unión por hGM-CSF. Dos de estos anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF se mencionan en la

50 presente como EV1018 (de la invención) y EV1019 (como referencia).

En un aspecto, la invención proporciona anticuerpos anti-hGM-CSF y sus fragmentos que se unen y neutralizan hGM-CSF.

En una forma de realización, se proporciona un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno reconoce ELYK (SEQ ID NO: 2) y TMMASHYKQH (SEQ ID NO: 3) en hGM-CSF, cuya secuencia de aminoácidos es como se establece en la SEQ ID NO: 1. En una forma de realización, la invención es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, donde dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende:

(a) una cadena pesada que comprende una secuencia que contiene V_H -CDR1, una secuencia que contiene V_H -CDR2 y una secuencia que contiene V_H -CDR3, en donde:

10 (i) la secuencia que contiene V_H -CDR1 es SYGMH (SEQ ID NO: 4),
(ii) la secuencia que contiene V_H -CDR2 es LTYHHGNRKFYADSVRG (SEQ ID NO: 5), y
(iii) la secuencia que contiene V_H -CDR3 es ESMGAINDN (SEQ ID NO: 6); y

(b) una cadena liviana que comprende una secuencia que contiene V_L -CDR1, una secuencia que contiene V_L -CDR2 y una secuencia que contiene V_L -CDR3, en donde:

15 (i) la secuencia que contiene V_L -CDR1 es IGNINNIGSHAVG (SEQ ID NO: 7),
(ii) la secuencia que contiene V_L -CDR2 es GRSPPS (SEQ ID NO: 8), y
(iii) la secuencia que contiene V_L -CDR3 es STWDSSLSAVV (SEQ ID NO: 9).

En un aspecto de referencia, el anticuerpo comprende:

(a) una cadena pesada que comprende una secuencia consenso que contiene V_H -CDR1, una secuencia consenso que contiene V_H -CDR2 y una secuencia consenso que contiene V_H -CDR3, en donde:

20 (i) la secuencia consenso que contiene V_H -CDR1 es FTFSX₁X₂NM (SEQ ID NO: 314), en donde X_1 es Y o H y X_2 es G o A,
(ii) la secuencia consenso que contiene V_H -CDR2 es X₃X₄X₅HX_nGX_nX₆KX₇YADSVX₈G (SEQ ID NO: 315), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X_3 es L o V, X_4 es T o I, X_5 es Y o W, X_6 es R o K, X_7 es F o Y y X_8 es R o K, y
(iii) la secuencia consenso que contiene V_H -CDR3 es EX_nX₉GX₁₀X_nX_nDX_n (SEQ ID NO: 316), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X_9 es M o V y X_{10} es A o G; y

(b) una cadena liviana que comprende una secuencia consenso que contiene V_L -CDR1, una secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 y una secuencia consenso que contiene V_L -CDR3, en donde:

30 (i) la secuencia consenso que contiene V_L -CDR1 es X_nGNX_nX_nNIGSX₁₁AVG (SEQ ID NO: 317), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X_{11} es H o Y,
(ii) la secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 es GX₁₂SPX₁₃SG (SEQ ID NO: 318), en donde X_{12} es R o K y X_{13} es A o P, y
(iii) la secuencia consenso que contiene V_L -CDR3 es STWDSX₁₄LSAVX₁₅ (SEQ ID NO: 319), en donde X_{14} es R o S y X_{15} es V o L; y el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno une específicamente hGM-CSF.

En otro aspecto de referencia, el anticuerpo comprende:

(a) una cadena pesada que comprende V_H -CDR1, V_H -CDR2 y V_H -CDR3, en donde:

(i) V_H -CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SHAMH (SEQ ID NO: 333),
(ii) V_H -CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de VIWHDGSKXXYADSVKG (SEQ ID NO: 334), y
40 (iii) V_H -CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de EWVGGTCDS (SEQ ID NO: 335); y
(b) una cadena liviana que comprende V_L -CDR1, V_L -CDR2 y V_L -CDR3, en donde:
(i) V_L -CDR1 tiene una secuencia de aminoácidos de SGNSSNIGSYAVG (SEQ ID NO: 330),

(ii) V_L -CDR2 tiene una secuencia de aminoácidos de GKSPAS (SEQ ID NO: 331), y

(iii) V_L -CDR3 tiene una secuencia de aminoácidos de STWDSRLSAV $_L$ (SEQ ID NO: 332) y el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno une específicamente hGM-CSF.

Por ejemplo, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno descrito con anterioridad se une con el GM-CSF humano con una K_D de menos de 400 pM, con mayor preferencia, con una K_D de menos de 160 pM.

El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno descrito en la presente neutraliza la actividad de hGM-CSF, de modo que el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tenga un valor de IC50 de menos de 100 pM (por ejemplo, menos de 30 pM, menos de 20 pM) tal como se determinó en un ensayo de proliferación de TF-1 a ED80 tal como se describe en la presente.

10 En cualquiera de las formas de realización, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno puede comprender una cadena pesada que es gamma 1 (γ_1), gamma 2 (γ_2), gamma 3 (γ_3) o gamma 4 (γ_4). Una cadena pesada se puede seleccionar de SEQ ID NOs: 10-33 y 38-80.

15 En cualquiera de las formas de realización, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno puede comprender una cadena liviana que es una cadena liviana lambda. En algunas formas de realización, la cadena liviana lambda puede contener una o las dos de las siguientes sustituciones de aminoácido: R100G y A153G, tal como se mencionó por medio de la secuencia de tipo salvaje. En una forma de realización, una cadena liviana se puede seleccionar de SEQ ID NOs: 34-37 y 202-221. La cadena liviana puede ser una cadena liviana lambda o una cadena liviana kappa. En algunas formas de realización, la cadena pesada es gamma 1 (γ_1), gamma 2 (γ_2), gamma 3 (γ_3) o gamma 4 (γ_4) y la cadena liviana es una cadena liviana lambda. En cualquiera de las formas de realización, la cadena pesada puede contener una 20 o varias sustituciones de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en: Q3E, T97A, T97V N95D, N95E, N95K, N95Q, N93Q/N95T, K144R, L164A y L165A, tal como se mencionó por medio de la secuencia de tipo salvaje. En algunas formas de realización, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende una cadena pesada que contiene una o varias sustituciones de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en: Q3E, T97A, T97V, N95D, N95E, N95K, N95Q, N93Q/N95T, K144R, L164A y L165A y una cadena liviana que contiene una o las dos de las 25 siguientes sustituciones de aminoácido: R100G y A153G.

30 El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describe en la presente incluye una V_H -CDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos SYGMH (SEQ ID NO: 4). El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describe en la presente incluye una V_H -CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos LTYHHGNRKFYADSVRG (SEQ ID NO: 5). El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describe en la presente incluye una V_H -CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos ESMGAINDN (SEQ ID NO: 6). El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describe en la presente incluye una V_L -CDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos IGNNNNIGSHAVG (SEQ ID NO: 7). El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describe en la 35 presente incluye una V_L -CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos GRSPPS (SEQ ID NO: 8). El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describe en la presente incluye a V_L -CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos STWDSSLAVV (SEQ ID NO: 9).

El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno que se une específicamente con hGM-CSF comprende 6 diferentes CDR, cuyas secuencias se establecen como SEQ ID NOs: 4-9.

En cualquiera de las formas de realización proporcionadas en la presente, el anticuerpo puede incluir una cadena pesada que es gamma 1 (γ_1), gamma 2 (γ_2), gamma 3 (γ_3) o gamma 4 (γ_4) y una cadena liviana que es kappa o lambda.

40 En algunas formas de realización, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno descritos en la presente también pueden comprender una secuencia señal, tales como las mostradas en SEQ ID NOs: 324, 325. y 326.

45 Las formas de realización dirigidas al tipo salvaje, así como sus variantes se incluyen en la invención. En algunas formas de realización, el anticuerpo o su fragmento comprende una cadena pesada que SEQ ID NO: 10 o una de sus variantes seleccionadas de SEQ ID NOs: 11-33, 38-80 y también comprende una cadena liviana que es SEQ ID NO: 34 o una de sus variantes seleccionadas de SEQ ID NOs: 35-37. En algunas formas de realización, la cadena pesada es SEQ ID NO: 160 o una de sus variantes seleccionadas de SEQ ID NOs: 161-245 y la cadena liviana es SEQ ID NO: 202 o una de sus variantes seleccionadas de SEQ ID NOs: 203-221.

50 En algunas formas de realización, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende una región de cadena pesada variable, en donde la secuencia de aminoácidos de la región de cadena pesada variable es SEQ ID NO: 348 o una de sus variantes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 349-362 y 363 y una región de cadena liviana variable, en donde la secuencia de aminoácidos de la región de cadena liviana variable es SEQ ID NO: 364 o SEQ ID NO: 365.

En una forma de realización, la secuencia de aminoácidos de la región de cadena pesada variable es SEQ ID NO: 348. En una forma de realización, la secuencia de aminoácidos de la región de cadena liviana variable es SEQ ID NO: 364.

En una forma de realización, la secuencia de aminoácidos de la región de cadena liviana variable es SEQ ID NO: 365. En una forma de realización, el anticuerpo pertenece a la clase de IgG₁(λ) (subclase).

En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno capaz de unirse con hGM-CSF (hGM-CSF) y neutralizante de la bioactividad de hGM-CSF tal como se describe en la presente se caracteriza porque tiene una región determinante de complementariedad (CDR) representada por secuencias de aminoácidos que consisten en SEQ ID NOs: 4 a 9. En algunas formas de realización, uno o varios aminoácidos pueden ser sustituidos, delecionados, insertados o añadidos en la CDR. El anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno tal como se describe en la presente se puede caracterizar porque el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno inhibe la proliferación de células TF-1 en aproximadamente el 50% a la concentración de aproximadamente 14 pM, cuando las células TF-1 se inducen para proliferar por hGM-CSF. En algunas formas de realización, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno inhibe la proliferación de células dendríticas de sangre periférica.

En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno tal como se describe en la presente tiene una gran afinidad por hGM-CSF con el valor K_D de 4×10^{-10} M o menor.

15 En algunas formas de realización, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno descrito en la presente pertenece una clase de IgG₁ (λ) (subclase). En algunas formas de realización, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF de la presente invención es un anticuerpo monoclonal humano.

20 La invención también incluye ácidos nucleicos y vectores que los comprenden. En una forma de realización, la invención es un ácido nucleico aislado que codifica un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno revelado en la presente. En una forma de realización, el ácido nucleico es ADN. En una forma de realización, la invención es un vector que comprende un ADN que codifica un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno revelado en la presente.

La invención también proporciona una célula huésped que comprende un vector de expresión que comprende un vector de ADN de la invención.

25 La invención también contempla un kit que comprende: (a) el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de la invención; y (b) uno o varios recipientes que contienen el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno.

La invención en una forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la invención, para usar en medicina.

30 La invención proporciona composiciones que comprenden un anticuerpo anti-hGM-CSF o su fragmento que se une y neutraliza hGM-CSF. Tal composición puede ser una composición farmacéutica (por ejemplo, un medicamento) que comprende un anticuerpo anti-hGM-CSF y/o sus fragmentos (o su combinación) y un portador farmacéuticamente aceptable. Se incluye el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de cualquiera de las formas de realización anteriores.

35 En otras formas de realización, una composición comprende más de un tipo de anticuerpos anti-GM-CSF, sus fragmentos o combinación, cada uno tal como se provee en la presente. Por ejemplo, la composición también puede comprender un segundo anticuerpo aislado o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, de modo que la composición comprenda más de un tipo (pluralidad) de anticuerpos, sus fragmentos de unión a antígeno o su combinación, cada uno de los cuales se une con GM-CSF. En algunas formas de realización, al menos uno de la pluralidad de anticuerpos, sus fragmentos de unión a antígeno o su combinación que se une con hGM-CSF es un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en: SEQ ID NOs: 10-80 y 348-365.

40 La invención también se refiere a una composición medicinal apropiada para usar en el tratamiento de una enfermedad causada por hGM-CSF que comprende: el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o la porción de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las formas de realización de la presente y un portador farmacéuticamente aceptable. Los ejemplos de la enfermedad causada por una producción excesiva de hGM-CSF incluyen: (a) enfermedades alérgicas tales como asma, atopía y polinosis (rinitis alérgica; fiebre del heno); (b) rechazo al injerto, enfermedad de injerto versus huésped (GV_{HD}); y (c) enfermedades autoinmunes tales como artritis reumatoidea.

Estas composiciones o una composición farmacológica veterinaria pueden comprender varios tipos de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF o sus porciones de unión a antígeno específicos del mismo antígeno particular y un portador farmacéuticamente aceptable.

45 En algunas formas de realización, la composición medicinal o la composición farmacológica veterinaria que se caracteriza porque los múltiples tipos de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF o sus porciones de unión a antígeno comprenden dos o más tipos de anticuerpos o sus porciones de unión a antígeno, se pueden seleccionar de los siguientes (a) y (b):

(a) un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno que tiene una CDR representada por una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NOs: 4 a 9 y que es específico de hGM-CSF,

5 (b) un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno de (a) que tiene una secuencia de aminoácidos en donde uno o varios aminoácidos están sustituidos, delecionados, insertados o añadidos y que es específico de hGM-CSF.

Esta composición medicinal o la composición farmacológica veterinaria puede inhibir la proliferación de células TF-1 en un 80% o más a una concentración de aproximadamente 55 pM cada uno, cuando las células TF-1 se inducen para proliferar por hGM-CSF.

10 El aspecto de la invención también contempla un kit que comprende cualquiera de las composiciones tal como están incluidas en la presente y uno o varios recipientes. En algunas formas de realización, el kit también comprende una instrucción. En algunas formas de realización, el kit también comprende una etiqueta, una instrucción o tanto una etiqueta como una instrucción.

15 También se proporciona el uso del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno descritos en la presente o la composición que comprende tal anticuerpo o fragmento. Cualquier anticuerpo anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno o composición tal como se describe en la presente se puede usar para la fabricación o preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociado con la sobreexpresión de hGM-CSF en un sujeto, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno se une con hGM-CSF y es capaz de neutralizar la actividad de hGM-CSF. En algunas formas de realización, la enfermedad o trastorno está seleccionado del grupo que consiste en: enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, fibrosis quística, enfermedad pulmonar intersticial, rinitis, artritis y artropatías relacionadas, psoriasis, leucemia mieloide, esclerosis múltiple.

20 Para usar tal como se describió, el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra al sujeto en una dosis que no excede una dosis tolerada máxima, en donde la dosis tolerada máxima es de aproximadamente 500 mg por dosis.

25 Un aspecto de la invención incluye el uso del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno o la composición tal como se describe en cualquiera de las formas de realización anteriores, para el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociados con la sobreexpresión de hGM-CSF en un sujeto, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno se une con hGM-CSF y es capaz de neutralizar la actividad de hGM-CSF. Por ejemplo, la enfermedad o trastorno puede ser enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, fibrosis quística, enfermedad pulmonar intersticial, rinitis, artritis y artropatías relacionadas, psoriasis, leucemia mieloide o esclerosis múltiple. Este uso incluye la administración del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno o la composición que lo comprende tal como se describe en la invención al sujeto en una dosis que no excede una dosis tolerada máxima, en donde la dosis tolerada máxima es de aproximadamente 500 mg por dosis.

30 La invención también proporciona métodos para el tratamiento de un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno que está asociado con la expresión aberrante de hGM-CSF usando un anticuerpo anti-hGM-CSF o su fragmento. El método comprende la administración a un sujeto con diagnóstico o en riesgo de desarrollar una enfermedad o trastorno asociados con expresión aberrante (por ejemplo, sobreexpresión) de hGM-CSF, una composición que comprende un anticuerpo anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que neutraliza la actividad de hGM-CSF in vivo en una cantidad efectiva para obtener al menos un efecto terapéutico en el sujeto.

35 La invención también incluye un método para mejorar la actividad neutralizante de hGM-CSF mediada por el anticuerpo anti-hGM-CSF, caracterizado porque los tipos múltiples de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF o sus porciones de unión a antígeno específicos del mismo antígeno particular se administran de forma simultánea. En algunas formas de realización, dos o más tipos de anticuerpos o sus porciones de unión a antígeno se seleccionan de los siguientes (a) y (b):

40 (a) un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno que tiene una CDR representada por una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NOs: 4 a 9,

45 (b) un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno de (a) que tiene una secuencia de aminoácidos en donde uno o varios aminoácidos están sustituidos, delecionados, insertados o añadidos y que es específico de hGM-CSF.

50 El aspecto comprende métodos para mejorar la actividad, caracterizados porque los dos o más tipos de anticuerpos o sus porciones de unión a antígeno inhiben la proliferación de células TF-1 en un 80% o más a una concentración de aproximadamente 55 pM cada uno, cuando las células TF-1 se inducen para proliferar por hGM-CSF.

La invención también proporciona un epitopo de hGM-CSF que es reconocido por los anticuerpos y sus fragmentos de unión a antígeno descritos en la presente. El epitopo de hGM-CSF en polipéptidos se establece en SEQ ID NOs: 2 y 3,

en donde el epitopo es reconocido por el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la presente descripción y en donde las secuencias de polipéptidos representan un segmento discontinuo de hGM-CSF (en base a la SEQ ID NO: 1). El epitopo es un segmento discontinuo de GM-CSF humano, en donde el epitopo comprende todos o una parte de residuos de los aminoácidos 77-80 de GM-CSF humano (SEQ ID NO: 1) y residuos de los aminoácidos 95-104 de GM-CSF humano (SEQ ID NO: 1) y es reconocido por un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que comprende 6 diferentes CDR tal como se establece en SEQ ID NOs: 4-9.

La invención también proporciona el uso de un epitopo de la invención. La invención también incluye métodos para controlar y/o identificar una molécula que une específicamente el epitopo descrito en la presente reconocido por los anticuerpos y sus fragmentos de unión a antígeno proporcionados en la presente. Algunas formas de realización se refieren a métodos para identificar una molécula que une el epitopo tal como se describe en la presente, que comprenden: (i) controlar una muestra biológica o una biblioteca de péptidos usando una sonda que comprende el epitopo; (ii) aislar una molécula que se une específicamente con la sonda; y (iii) identificar la molécula. La molécula que une el epitopo puede ser, por ejemplo, un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno. Algunas formas de realización contemplan la sonda que también comprende un marcador detectable. En algunas formas de realización, el método incorpora la sonda que se inmoviliza.

También se proporcionan métodos o procesos para producir anticuerpos anti-hGM-CSF y sus fragmentos de unión a antígeno. La invención incluye métodos para producir un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende al menos una secuencia consenso que contiene V_H -CDR1, una secuencia consenso que contiene V_H -CDR2, una secuencia consenso que contiene V_H -CDR3, una secuencia consenso que contiene V_L -CDR1, una secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 y una secuencia consenso que contiene V_L -CDR3, en una célula huésped. El método es un método para producir un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF de acuerdo con la reivindicación 1 o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 1 que se une con hGM-CSF, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende al menos una secuencia que contiene V_H -CDR1, una secuencia que contiene V_H -CDR2, una secuencia que contiene V_H -CDR3, una secuencia que contiene V_L -CDR1, una secuencia que contiene V_L -CDR2 y una secuencia que contiene V_L -CDR3, en una célula huésped, que comprende:

(i) obtener la célula huésped que comprende al menos una secuencia de ADN que codifica al menos la secuencia que contiene V_H -CDR1, la secuencia que contiene V_H -CDR2, la secuencia que contiene V_H -CDR3, la secuencia que contiene V_L -CDR1, la secuencia que contiene V_L -CDR2 y la secuencia que contiene V_L -CDR3, en donde:

- 30 (a) la secuencia que contiene V_H -CDR1 es SYGMH (SEQ ID NO: 4),
- (b) la secuencia que contiene V_H -CDR2 es LTYHHGNRKFYADSVRG (SEQ ID NO: 5),
- (c) la secuencia que contiene V_H -CDR3 es ESMGAINDN (SEQ ID NO: 6),
- (d) la secuencia que contiene V_L -CDR1 es IGNNNNIGSHAVG (SEQ ID NO: 7),
- (e) la secuencia que contiene V_L -CDR2 es GRSPPS (SEQ ID NO: 8), y
- 35 (f) la secuencia que contiene V_L -CDR3 es STWDSSLSAVV (SEQ ID NO: 9); y

(ii) cultivar la célula huésped en condiciones apropiadas para la expresión de ADN y producción del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno.

Un método de referencia incluye las etapas de:

- 40 (i) obtener la célula huésped que comprende al menos una secuencia de ADN que codifica al menos la secuencia consenso que contiene V_H -CDR1, la secuencia consenso que contiene V_H -CDR2, la secuencia consenso que contiene V_H -CDR3, la secuencia consenso que contiene V_L -CDR1, la secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 y la secuencia consenso que contiene V_L -CDR3, en donde:

 - (a) la secuencia consenso que contiene V_H -CDR1 es FTFSX₁X₂MH (SEQ ID NO: 314), en donde X₁ es Y o H y X₂ es G o A,
 - 45 (b) la secuencia consenso que contiene V_H -CDR2 es X₃X₄X_nHX_nGX_nX₆KX₇YADSVX₈G (SEQ ID NO: 315), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₃ es L o V, X₄ es T o I, X₅ es Y o W, X₆ es R o K, X₇ es F o Y y X₈ es R o K,
 - (c) la secuencia consenso que contiene V_H -CDR3 es EX_nX₉GX₁₀X_nX_nDX_n (SEQ ID NO: 316), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₉ es M o V y X₁₀ es A o G,
 - 50 (d) la secuencia consenso que contiene V_L -CDR1 es X_nGNX_nX_nNIGSX₁₁AVG (SEQ ID NO: 317), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X₁₁ es H o Y,

(e) la secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 es $GX_{12}SPX_{13}SG$ (SEQ ID NO: 318), en donde X_{12} es R o K y X_{13} es A o P, y

(f) la secuencia consenso que contiene V_L -CDR3 es $STWDSX_{14}LSAVX_{15}$ (SEQ ID NO: 319), en donde X_{14} es R o S y X_{15} es V o L;

5 (ii) expresar el ADN en la célula huésped; y

(iii) cultivar la célula huésped en condiciones apropiadas para la expresión de ADN y producción del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno.

En algunas formas de realización, al menos un ADN codifica una cadena pesada o una de sus porciones y una cadena liviana o una de sus porciones, en donde la cadena pesada o una de sus porciones está seleccionada del grupo que 10 consiste en: SEQ ID NOs: 10-33, 38-80, 152-183, 222-245, 348-362 y 363 y en donde la cadena liviana o una de sus porciones tiene una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 34-37, 364 y 365.

El proceso anterior también puede comprender el aislamiento del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno.

El proceso anterior también puede comprender la preparación de una composición que comprende dicho anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno y un portador farmacéuticamente aceptable.

15 También se proporcionan vectores que comprenden ADN que codifica al menos una porción de los anticuerpos o sus fragmentos de unión a antígeno descritos en la presente. Las células huésped que expresan este vector también están incluidas.

En algunas formas de realización, un vector comprende ADN que codifica una V_H -CDR1, una V_H -CDR2 y una V_H -CDR3, en donde:

20 V_H -CDR1 es SYGMH (SEQ ID NO: 4)

V_H -CDR2 es LTYHHGNRKFYADSVRG (SEQ ID NO: 5), y

V_H -CDR3 es ESMGAINDN (SEQ ID NO: 6)

En algunas formas de realización, un vector comprende ADN que codifica una V_L -CDR1, una V_L -CDR2 y una V_L -CDR3, en donde

25 V_L -CDR1 es IGNNNNIGSHAVG (SEQ ID NO: 7)

V_L -CDR2 es GRSPPS (SEQ ID NO: 8), y

V_L -CDR3 es STWDSSLAVV (SEQ ID NO: 9).

En algunas formas de realización de la invención, el ADN aislado codifica un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su 30 porción de unión a antígeno capaz de unirse con hGM-CSF y neutralizante de la bioactividad de hGM-CSF, caracterizado porque el ADN aislado codifica una secuencia de aminoácidos que comprende al menos una seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 4 a 9.

El ADN aislado puede ser capaz de hibridar en condiciones rigurosas con el ADN descrito con anterioridad. Los vectores que incorporan cualquier ADN de este tipo, así como células huésped que expresan los vectores de expresión recombinantes se incluyen en el aspecto de la invención.

35 **Breve descripción de las figuras**

La Figura 1 muestra un diagrama de flujo de aislamiento de clones celulares que producen anticuerpos.

La Figura 2 muestra un esquema de análisis de afinidad de anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales.

La Figura 3 muestra la evaluación del efecto de inhibición de anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales sobre la proliferación de células dendríticas de sangre periférica en presencia de GM-CSF.

40 **La Figura 4** muestra la evaluación del efecto de inhibición de anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales sobre la proliferación de células TF-1 en presencia de hGM-CSF de levadura (Leukine).

La Figura 5 muestra la evaluación del efecto de inhibición de anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales sobre la proliferación de células TF-1 en presencia de *hGM-CSF de E. coli* (Peprotech).

La Figura 6 muestra la evaluación del efecto de inhibición del uso combinado de dos anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales sobre la proliferación de células TF-1 en presencia de hGM-CSF de levadura (Leukine).

La Figura 7 muestra la evaluación del efecto de inhibición del uso combinado de dos anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales sobre la proliferación de células TF-1 en presencia de *hGM-CSF de E. coli* (Peprotech).

5 La Figura 8 son dos gráficos que representan la inhibición dependiente de la dosis: GM-CSF humano (8A) y GM-CSF de rhesus (8B).

10 La Figura 9A es un gráfico de barra que representa la actividad de mieloperoxidasa (MPO) medida en pellet de fluido broncoalveolar (BALF) de ratones expuestos a humo de cigarrillo. -CS: ratones tratados con vehículo (300 µl de vehículo i.p. el día 1 y 3, sin exposición a humo de cigarrillo. +CS, isótipo AB: ratones tratados con 300 µl de isótipo de anticuerpo i.p. el día 1 y 3, exposición a humo de cigarrillo. +CS, anti-GM-CSF AB: ratones tratados con 300 µl de anticuerpo anti-GM-CSF i.p. el día 1 y 3, exposición a humo de cigarrillo n = 10 por grupo, promedio ± SEM, *p<0,05, ***p<0,001.

15 La Figura 9B es un par de gráficos de barras que representan la determinación de citoquina en sobrenadantes BALF. Lado izquierdo: Determinación de niveles de MCP-1. Lado derecho: Determinación de niveles de MIP-1α. -CS: ratones tratados con vehículo (300 µl de vehículo i.p. el día 1 y 3), sin exposición a humo de cigarrillo. +CS, isótipo AB: ratones tratados con 300 µl de isótipo anticuerpo i.p. el día 1 y 3, exposición a humo de cigarrillo. +CS, anti-GM-CSF AB: ratones tratados con 300 µl de anticuerpo anti-GM-CSF i.p. el día 1 y 3, exposición a humo de cigarrillo. n = 10 por grupo, promedio ± SEM, *p<0,05, ***p<0,001.

Descripción detallada de la invención

20 Tal como se describe en la presente, se obtuvo el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF de una célula productora de anticuerpo derivado de la sangre de un paciente con proteinosis alveolar idiopática. En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno en la presente invención se obtiene de una célula productora de anticuerpo derivada de la sangre del paciente con proteinosis alveolar idiopática. Conforme a ello, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno en una forma de realización de la presente invención es un anticuerpo monoclonal completamente humano. En consecuencia, minimiza el riesgo de disparar inmunogenicidad, cuando la preparación de anticuerpo se administra a un cuerpo humano.

25 El problema que la invención está por resolver es el siguiente: Esta invención se enfoca a proporcionar anticuerpos monoclonales de unión a GM-CSF y sus fragmentos de unión a GM-CSF que exhiben mayor capacidad neutralizante o actividad contra hGM-CSF y composiciones que incluyen al menos un tipo de tales anticuerpos monoclonales o sus fragmentos, así como métodos de tratamiento de condiciones o enfermedades asociadas con sobreexpresión de hGM-CSF (niveles de hGM-CSF mayores en un individuo que sufre de una condición, enfermedad o trastorno que en un individuo que no sufre de la condición, enfermedad o trastorno).

30 El anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno descrito en la presente descripción se une específicamente con hGM-CSF, cuya expresión aberrante puede producir diversas enfermedades y reduce o elimina (neutraliza) su bioactividad. Los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF exhiben la actividad neutralizante (a hGM-CSF) que es mayor que la de los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF previamente existentes. En particular, los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF de la presente invención que son anticuerpos monoclonales humanos no tienen inmunogenicidad y no inducen inmunorreacción.

35 Por "se une específicamente" implica alta avidez y/o alta afinidad de unión de un anticuerpo con un polipéptido específico, por ejemplo, epitopo de una proteína como una proteína de GM-CSF humano. La unión de anticuerpo con el epitopo en su polipéptido específico es preferentemente más fuerte que la unión del mismo anticuerpo con cualquier otro epitopo, en particular aquellos que pueden estar presentes en moléculas asociadas o en la misma muestra, cuando el polipéptido de interés específico, por ejemplo, se une más fuertemente con fragmentos de epitopo de una proteína como GM-CSF de modo que al ajustar las condiciones de unión, el anticuerpo se une casi exclusivamente con un sitio de epitopo o fragmentos de una proteína deseada como un fragmento de epitopo expuesto por tratamiento de GM-CSF y no expuesto en factores relacionados de la misma subfamilia. Un anticuerpo aislado de la invención es preferentemente inmunorreactivo e inmunoespecífico para una especie específica. Por ejemplo, los anticuerpos de la invención reconocen GM-CSF humano, pueden reconocer GM-CSF de rhesus y/o GM-CSF de mono tití, pero en general no el de una contraparte murina. Se apreciará que los anticuerpos y sus fragmentos de unión a antígeno tal como se describen en este aspecto de la invención reconocen el epitopo del antígeno en una conformación nativa o sustancialmente próxima a su conformación nativa como el segmento discontinuo del antígeno que se colocan juntos en una proximidad cercana dentro del contexto del antígeno completo (por ejemplo, hGM-CSF) tal como se observa en estudios estructurales, formando así cooperativamente un epitopo (por ejemplo, "bolsillos" sobre la superficie del antígeno) que es reconocido por los anticuerpos de la invención. Como tales, los anticuerpos o sus fragmentos de unión a antígeno tal como se describe en este aspecto de la invención no reaccionan de forma cruzada con la proteína que no es GM-CSF que contiene las dos secuencias de polipéptidos que forman un epitopo tal como se describió con anterioridad. Se

apreciará que en el contexto de unión anticuerpo-antígeno, la unión se considera “específica” en virtud de la naturaleza de la interacción. Como tal, “un anticuerpo que se une con GM-CSF” se deberá construir para unirse con el antígeno (es decir, GM-CSF) con especificidad.

5 Tal como se usa en la presente, un término “anticuerpo” indica una molécula de inmunoglobulina en la que 4 cadenas de polipéptidos, 2 cadenas pesadas y 2 cadenas livianas se conectan interactivamente por medio de un enlace disulfuro. Los anticuerpos monoclonales se pueden generar por tecnología monoclonal o recombinante. La técnica es familiar con la tecnología. Las expresiones “porción de unión a antígeno” y “fragmento de unión a antígeno” se usan de modo indistinto en la presente y describen cualquier variante acortada del anticuerpo que exhibe con preferencia la actividad de unión a antígeno específica con un antígeno (por ejemplo, hGM-CSF). En particular, un fragmento de la invención es un fragmento que se une con hGM-CSF en el mismo epitopo que el respectivo anticuerpo monoclonal. Un fragmento puede ser, por ejemplo, un fragmento Fab o cualquier otro fragmento que exhibe las características descritas con anterioridad: Además, los fragmentos de anticuerpo también incluyen anticuerpos de cadena simple (scFV) en donde se incorporan la región variable de anticuerpo y la región determinante de complementariedad (CDR), anticuerpo biespecífico y anticuerpo multiespecífico.

10 15 Tal como se usa en la presente, “bioactividad” es sinónimo de actividad biológica. Así, “bioactividad de hGM-CSF” es la función biológica de hGM-CSF tal como se determina o se mide in vivo o en un ensayo de base celular, como los descritos en la presente. Más específicamente, la bioactividad de hGM-CSF se puede medir en un ensayo de proliferación celular. Se emplean las líneas celulares apropiadas que se conocen por responder a GM-CSF. Típicamente, para un sistema celular humano, se usa la línea celular de eritroleucemia humana, TF-1, para llevar a cabo 20 un ensayo de proliferación. TF-1 es una línea celular establecida de un paciente con eritroleucemia. El ensayo se basa en la inhibición de proliferación de células TF-1 estimulada por GM-CSF y está bien establecido en la técnica. También 25 pueden ser apropiadas otras líneas celulares. Un experto en la técnica será capaz de adaptar sistemas o condiciones de ensayo apropiados.

25 Los ensayos de proliferación se llevan a cabo en presencia de diversas concentraciones de GM-CSF recombinante humano de tipo salvaje (mencionado como rhGM-CSF). En base a estos datos, se pueden obtener curvas dependientes de las dosis. La concentración de GM-CSF requerida para producir un 80% de la respuesta biológica máxima para la proliferación en células TF-1 se define en la presente como ED₈₀ o ED80. Así, ED80 representa “Dosis efectiva al 80%” de la respuesta máxima. De modo similar, la concentración de GM-CSF requerida para dar una respuesta máxima media en un ensayo biológico se expresa como ED₅₀ o ED50. Típicamente, se dice que el valor de ED50 de GM-CSF es 30 0,02 - 1 ng/ml tal como se mide en un ensayo de proliferación celular usando la línea celular TF-1 dependiente de GM-CSF humano.

35 Este o cualquier otro sistema de ensayo similar se puede usar para identificar o determinar la actividad de un inhibidor o antagonista para hGM-CSF. Por ejemplo, el sistema de ensayo de proliferación se puede usar para medir la capacidad neutralizante de un anticuerpo contra hGM-CSF. Otros ejemplos de ensayos para medir una función biológica de GM-CSF incluyen ensayo de secreción de IL-8 y ensayo de inducción de CD11b/Mac1 en superficie.

40 Los términos “neutralización”, “neutralizar”, “neutralizantes” se refieren a la inhibición de una actividad biológica de un factor bioactivo, como hGM-CSF. Así, un anticuerpo contra hGM-CSF con capacidad neutralizante o capacidad neutralizante implica que el anticuerpo es capaz de unirse y antagonizar o contrarrestar una actividad biológica de hGM-CSF en un sistema biológico, por ejemplo, el efecto proliferativo de hGM-CSF en un sistema biológico como en células TF-1, inhibiendo o eliminando sustancialmente una actividad biológica de hGM-CSF.

45 45 Las expresiones tales como “efecto inhibidor”, “inhibición”, “capaz de inhibir” e “inhibición” significan 5 al 100% de supresión de bioactividad o bioactividades causadas por un antígeno objeto, no limitado por su origen. Con fines terapéuticos, idealmente, la inhibición de la bioactividad de hGM-CSF debería ser de entre el 50% y el 100%.

50 En general, la IC₅₀ es una medida de la efectividad de un compuesto para inhibir la función biológica o bioquímica. Esta medida cuantitativa indica cuánto de un fármaco particular u otro agente (inhibidor) es necesario para inhibir un proceso biológico dado (o componente de un proceso, es decir, una enzima, célula, receptor celular o microorganismo) a la mitad. En otras palabras, es la concentración inhibidora máxima media (50%) (IC) de una sustancia (50% de IC o IC₅₀). Se usa comúnmente como una medida de potencia de fármaco antagonista en una investigación farmacológica. De acuerdo con las directivas adoptadas por la Food and Drug Administration de los Estados Unidos, IC₅₀ representa la concentración de un fármaco que se requiere para el 50% de inhibición in vitro.

Conforme a ello, la IC₅₀ de un anticuerpo neutralizante contra hGM-CSF se puede determinar construyendo una curva de dosis-respuesta y examinando el efecto de diferentes concentraciones del anticuerpo neutralizante al revertir la actividad proliferativa de hGM-CSF. Los valores de IC₅₀ se pueden calcular para un antagonista dado determinando la concentración necesaria para inhibir la mitad de la respuesta biológica máxima del agonista.

55 55 De acuerdo con diversas formas de realización, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno tiene un valor de IC₅₀ de menos de 20 pM, de menos de 25 pM, de menos de 30 pM, de menos de 40 pM, de

menos de 50 pM, de menos de 60 pM, de menos de 70 pM, de menos de 80 pM, de menos de 90 pM o de menos de 100 pM, en cada instancia, tal como se determina en un ensayo de proliferación de TF-1 en ED80. En formas de realización específicas, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tenga un valor de IC50 de menos de 20 pM, menos de 25 pM, menos de 30 pM o menos de 40 pM, tal como se determina en un ensayo de proliferación de TF-1 en ED80.

5 Los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF en la presente descripción incluyen moléculas de inmunoglobulina que comprenden 2 cadenas pesadas y 2 cadenas livianas. Cada una de las cadenas pesadas incluye una región de cadena pesada variable (apropiadamente abreviadas como "HCVR" o "V_H") y una región constante de cadena pesada (la región constante de cadena pesada tiene 3 dominios, que se abrevian como "CH1", "CH2" y "CH3"). Cada una de las cadenas 10 livianas incluye una región de cadena liviana variable (apropiadamente abreviadas como "LCVR" o "V_L") y una región constante de cadena liviana (la región constante de cadena liviana tiene un dominio abreviado como "C_L"). HCVR y LCVR son particularmente importantes para la especificidad de unión del anticuerpo.

15 La secuencia de aminoácidos de la región variable es responsable de la mayoría de las interacciones entre el anticuerpo y el antígeno. En consecuencia, cuando se construye un vector de expresión que contiene una secuencia de región variable derivada de un anticuerpo natural en una secuencia marco derivada de un anticuerpo diferente con una 20 propiedad diferente, el vector resultante puede expresar anticuerpo recombinante que imita una propiedad del anticuerpo natural. En consecuencia, no es necesario obtener una secuencia completa de un particular anticuerpo cuando se genera un anticuerpo recombinante intacto que tiene una propiedad de unión similar como el anticuerpo original. Una secuencia parcial de una cadena pesada y una cadena liviana que cubre la región variable puede a veces ser suficiente para lograr esta finalidad.

25 El anticuerpo interactúa con el antígeno objeto principalmente por medio de los residuos de los aminoácidos de LCVR y HCVR. En consecuencia, las secuencias de aminoácidos en las regiones variables son más diversas entre los anticuerpos que aquellas que están fuera de la región variable. HCVR y LCVR también se subdividen en la "región marco (FR)" relativamente estable y la "región determinante de complementariedad (CDR)" hipervariable. HCVR y LCVR consisten cada una en 3 CDR y 4 FR, respectivamente. Su orden es FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4, desde el terminal amino hasta el terminal carboxi.

30 La técnica es familiar con los métodos de determinación o pronóstico de los residuos de los aminoácidos que corresponden a cada uno de los dominios estructurales de anticuerpos, que incluyen las regiones hipervariables, por ejemplo, CDR. Algunos de los métodos comúnmente usados incluyen Chotia, AbM y Kabat.

35 30 En general, el anticuerpo se une con antígeno con una afinidad de al menos aproximadamente 1×10^{-7} M y se une con cierto antígeno con alta afinidad al menos dos veces en comparación con antígenos no específicos (por ejemplo, BSA, caseína).

Una expresión "gran afinidad" por cierto anticuerpo de IgG significa que un anticuerpo tiene una afinidad de unión de al 35 menos aproximadamente 1×10^{-7} M, con preferencia de al menos aproximadamente 1×10^{-8} M, con mayor preferencia, de al menos 1×10^{-9} M y con mucho mayor preferencia, de al menos 1×10^{-10} M.

La definición de "gran afinidad" es diferente entre isotipos de anticuerpo. Por ejemplo, el isótipo de IgM se define por tener una "gran afinidad", cuando tiene una afinidad de unión de al menos 1×10^{-7} M.

Anticuerpos de la invención

40 Tal como se describe en la presente, la invención se refiere a anticuerpos monoclonales anti-GM-CSF humanos (anti-hGM-CSF) y sus fragmentos con mayor capacidad neutralizante por hGM-CSF que los anticuerpos monoclonales existentes (que los anticuerpos monoclonales disponibles en la actualidad) contra hGM-CSF. Un tipo de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF o sus fragmentos descrito en la presente se puede usar o administrar.

45 De modo alternativo, más de un tipo de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF se puede usar o administrar en conjunto. Los inventores hallaron que, cuando se usan juntos más de un tipo de anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales, proporcionar una mayor capacidad neutralizante (por ejemplo, mayor actividad inhibidora del crecimiento celular). Además, uno o más tipos de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF o sus fragmentos se pueden usar o administrar en combinación con uno o varios agentes terapéuticos que no son un anticuerpo, como molécula pequeña, ARNai o péptido.

50 50 En un aspecto, se proporcionan anticuerpos monoclonales aislados o sus fragmentos de unión a antígeno que reconocen y se unen específicamente con hGM-CSF. Se describen en la presente anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF aislados y sus fragmentos de unión a antígeno que se unen con hGM-CSF (anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF que se unen con hGM-CSF y sus fragmentos de unión a antígeno que se unen con hGM-CSF) y exhiben capacidad neutralizante o actividad neutralizante contra la bioactividad de hGM-CSF. En una forma de realización, se proporcionan anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF aislados y sus fragmentos de unión a antígeno que se unen con hGM-CSF y exhiben capacidad neutralizante o actividad contra hGM-CSF, en donde el anticuerpo monoclonal y su

fragmento de unión a antígeno reconocen lo siguiente following: ELYK (SEQ ID NO: 2) y TMMASHYKQH (SEQ ID NO: 3) en hGM-CSF (SEQ ID NO: 1). Los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF aislados y sus fragmentos de unión a antígeno que se unen con hGM-CSF, en donde el anticuerpo monoclonal y su fragmento de unión a antígeno reconocen lo siguiente: ELYK (SEQ ID NO: 2) y TMMASHYKQH (SEQ ID NO: 3) en hGM-CSF, exhiben capacidad neutralizante o actividad contra la actividad de hGM-CSF y son de utilidad para el tratamiento y la prevención de enfermedades, condiciones y trastornos asociados con la sobreexpresión de hGM-CSF. Una forma de realización específica es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno reconoce el siguiente discontinuo epitopo de hGM-CSF, tal como se define (SEQ ID NO: 1), correspondiente a los aminoácidos: ELYK (SEQ ID NO: 2) en la posición 77-80 en hGM-CSF y TMMASHYKQH (SEQ ID NO: 3) en la posición 95-104 en hGM-CSF. Los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF aislados y sus fragmentos de unión a antígeno descritos en la presente se unen específicamente con hGM-CSF. No reaccionan de forma cruzada con una proteína que es una proteína distinta de GM-CSF.

Más específicamente, se describen en la presente anticuerpos monoclonales que se unen específicamente con hGM-CSF y tienen la capacidad de neutralizar la actividad biológica de hGM-CSF. Cuatro de estos anticuerpos descritos en la presente se designan como EV1018, EV1019, EV1003 y EV1007, tal como se resume en las Tablas 1 y 2 en los Ejemplos. Así, EV1018, EV1019, EV1003 y EV1007 se unen con hGM-CSF y son capaces de neutralizar los efectos promotores del crecimiento de hGM-CSF. Tal como se muestra con mayor detalle, los anticuerpos EV1018 y EV1019 reconocen el mismo o sustancialmente el epitopo superpuesto en la proteína hGM-CSF.

El presente anticuerpo de la invención es EV1018. Todos los otros anticuerpos se muestran aquí por referencia.

20 También está comprendido por la invención un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno, caracterizado porque el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno tiene una secuencia de aminoácidos en la que uno o varios aminoácidos están sustituidos, deletiados, insertados o añadidos en una región determinante de complementariedad (CDR).

25 En otro aspecto, se proporciona un ácido desoxirribonucleico aislado (ADN) que codifica un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno capaz de unirse con hGM-CSF y neutraliza la bioactividad de hGM-CSF, caracterizado porque el ADN aislado codifica una secuencia de aminoácidos que comprende al menos una seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 4-9.

30 Una forma de realización de la presente invención se refiere a un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o una porción de unión a antígeno capaz de unirse con hGM-CSF (hGM-CSF) y neutralizar la bioactividad de hGM-CSF (hGM-CSF), caracterizado porque el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o la porción de unión a antígeno tiene una región determinante de complementariedad (CDR) representada por al menos una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 4 a 9.

35 Otro aspecto se refiere a un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o una porción de unión a antígeno capaz de unirse con hGM-CSF y neutralizar la bioactividad de hGM-CSF, caracterizado porque el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o la porción de unión a antígeno tiene una región determinante de complementariedad (CDR) representada por al menos una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 330-335.

40 En la presente invención, un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF que tiene una región determinante de complementariedad (CDR) representada por una o varias secuencias de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 4 a 9, y, un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF que tiene una región determinante de complementariedad (CDR) representada por una o varias secuencias de aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 330-335, se consideran diferentes tipos de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF.

Un anticuerpo monoclonal o su porción de unión a antígeno en donde uno o varios aminoácidos están deletiados, reemplazados, insertados o añadidos en las regiones determinantes de complementariedad (CDRs) se incluirán en la presente invención siempre que se una específicamente con hGM-CSF y neutralice su bioactividad.

45 La presente invención incluye el anticuerpo monoclonal o su porción de unión a antígeno capaz de unirse con hGM-CSF y neutralizar la bioactividad de hGM-CSF, en donde el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno tiene una CDR seleccionada del grupo que consiste en:

- (a) una cadena liviana (cadena L) CDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 7,
- (b) una cadena liviana (cadena L) CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 8, y
- (c) una cadena liviana (cadena L) CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 9.

50 En otro aspecto, se incluye el anticuerpo monoclonal o su porción de unión a antígeno capaz de unirse con hGM-CSF y neutralizar la bioactividad de hGM-CSF, en donde el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno tiene una CDR seleccionada del grupo que consiste en:

- (d) una cadena liviana (cadena L) CDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 330,
- (e) una cadena liviana (cadena L) CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 331, y
- (f) una cadena liviana (cadena L) CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 332.

5 El siguiente anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno, cuando se une específicamente con hGM-CSF y neutraliza su bioactividad, también está incorporado en la presente invención: anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno, en donde, la región determinante de complementariedad de cadena liviana (CDR) descrita con anterioridad se modificó por delección, reemplazo, inserción o adición de uno o varios aminoácidos.

10 La presente invención incluye un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno capaz de unirse con hGM-CSF y neutralizar la bioactividad de bGM-CSF, en donde el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno tiene una CDR seleccionada del grupo que consiste en:

- (a) una cadena pesada (cadena H) CDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 4,
- (b) una cadena pesada (cadena H) CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 5, y
- (c) una cadena pesada (cadena H) CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 6.

15 En otro aspecto, se incluye el anticuerpo monoclonal o su porción de unión a antígeno capaz de unirse con hGM-CSF y neutralizar la bioactividad de hGM-CSF, en donde el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno tiene una CDR seleccionada del grupo que consiste en:

- (a) una cadena pesada (cadena H) CDR1 que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 333,
- (b) una cadena pesada (cadena H) CDR2 que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 334, y
- (c) una cadena pesada (cadena H) CDR3 que tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 335.

20 El siguiente anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno, cuando se une específicamente con hGM-CSF y neutraliza su bioactividad, también está incorporado en la presente invención:

25 El anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno, en donde la región determinante de complementariedad de cadena pesada (CDR) descrita con anterioridad se modificó por delección, reemplazo, inserción o adición de uno o varios aminoácidos.

El epitopo de GM-CSF

30 También el objeto de la presente es un epitopo de hGM-CSF, es decir, un segmento discontinuo de GM-CSF humano, en donde el epitopo comprende residuos de los aminoácidos 77-80 de GM-CSF humano (SEQ ID NO: 1) y residuos de los aminoácidos 95-104 de GM-CSF humano (SEQ ID NO: 1) y se define por las secuencias de polipéptidos tal como se establece en SEQ ID NO: 2 y SEQ ID NO: 3 y es reconocido por un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que comprende 6 diferentes CDR tal como se establece en SEQ ID NOs: 4-9.

35 Tal como se describe con mayor detalle en los Ejemplos, el epitopo de hGM-CSF reconocido por los anticuerpos monoclonales EV 10 18 y EV 1019 fue identificado por un estudio de mapeo de epitopos. Se halló que tanto EV1018 como EV1019 reconocían el mismo sitio (o sustancialmente superpuesto) del antígeno hGM-CSF, correspondiente a los residuos de los aminoácidos 77-80 y 95-104, tal como se determina de acuerdo con el N.º de acceso a GenBank: NP_000749. Los estudios estructurales indicaron que, si bien los dos segmentos son discontinuos en la secuencia primaria, los dos segmentos del polipéptido se ponen cerca uno del otro cuando se pliegan, formando cooperativamente un epitopo conformacional. Consistente con la observación de que tanto EV1018 como EV1019 reconocen el mismo epitopo o uno sustancialmente superpuesto, los análisis de las secuencias de CDR de EV1018 y EV1019 muestran similitudes sustanciales. Al comparar las secuencias de péptidos de las CDR de estos dos anticuerpos, se obtienen las siguientes secuencias consenso (por ejemplo, fórmulas), lo que representa los residuos superpuestos (por ejemplo, comunes) que comprenden cada una de las CDR:

40 Para V_H -CDR1: FTFSX₁X₂MH (SEQ ID NO: 314), en donde X₁ es Y o H y X₂ es G o A;

Para V_H -CDR2: X₃X₄X₅HX_nGX_nX₆KX₇YADSVX₈G (SEQ ID NO: 315), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₃ es L o V, X₄ es T o I, X₅ es Y o W, X₆ es R o K, X₇ es F o Y y X₈ es R o K;

Para V_H -CDR3: EX_nX₉GX₁₀X_nX_nDX_n (SEQ ID NO: 316), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₉ es M o V y X₁₀ es A o G;

Para V_L -CDR1: $X_nGNX_nX_nNIGSX_{11}AVG$ (SEQ ID NO: 317), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X_{11} es H o Y;

Para V_L -CDR2: $GX_{12}SPX_{13}SG$ (SEQ ID NO: 318), en donde X_{12} es R o K y X_{13} es A o P; y

Para V_L -CDR3: $STWDSX_{14}LSAVX_{15}$ (SEQ ID NO: 319), en donde X_{14} es R o S y X_{15} es V o L.

5 En cada una de las fórmulas de consenso, se muestran los residuos de los aminoácidos que comprenden una correspondiente CDR en el formato de letra única convencional. Se muestran los residuos idénticos que son compartidos tanto por EV1018 como por EV1019.

Conforme a ello, un aspecto de la presente es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF y exhibe la capacidad neutralizante o actividad contra hGM-CSF, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende (a) una cadena pesada o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una parte de una cadena pesada, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR1 $FTFSX_1X_2MH$ (SEQ ID NO: 314), en donde X_1 es Y o H y X_2 es G o A, (ii) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR2 $X_3X_4X_5HX_nGX_nX_6KX_7YADSVX_8G$ (SEQ ID NO: 315), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X_3 es L o V, X_4 es T o I, X_5 es Y o W, X_6 es R o K, X_7 es F o Y y X_8 es R o K y (iii) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR3 $EX_nX_9GX_{10}X_nX_nDX_n$ (SEQ ID NO: 316), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X_9 es M o V y X_{10} es A o G; y (b) una cadena liviana o, en caso de un fragmento de anticuerpo, una cadena liviana o una parte de ella, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR1 $X_nGNX_nX_nNIGSX_{11}AVG$ (SEQ ID NO: 317), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X_{11} es H o Y, (ii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 $GX_{12}SPX_{13}SG$ (SEQ ID NO: 318), en donde X_{12} es R o K y X_{13} es A o P y (iii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR3 $STWDSX_{14}LSAVX_{15}$ (SEQ ID NO: 319), en donde X_{14} es R o S y X_{15} es V o L; y en donde el anticuerpo o su fragmento reconoce ELYK (SEQ ID NO: 2) y TMMASHYKQH (SEQ ID NO: 3) en hGM-CSF. En una forma de realización específica, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno se une con un epitopo discontinuo en los siguientes: ELYK (SEQ ID NO: 2) y TMMASHYKQH (SEQ ID NO: 3) en hGM-CSF (SEQ ID NO: 1).

25 Otro aspecto descrito en la presente es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado que se une con hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, en donde el anticuerpo o su fragmento comprende (a) una cadena pesada o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una parte de una cadena pesada, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR1 $FTFSX_1X_2MH$ (SEQ ID NO: 314), en donde X_1 es Y o H y X_2 es G o A, (ii) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR2 $X_3X_4X_5HX_nGX_nX_6KX_7YADSVX_8G$ (SEQ ID NO: 315), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X_3 es L o V, X_4 es T o I, X_5 es Y o W, X_6 es R o K, X_7 es F o Y y X_8 es R o K y (iii) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR3 $EX_nX_9GX_{10}X_nX_nDX_n$ (SEQ ID NO: 316), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X_9 es M o V y X_{10} es A o G; y (b) una cadena liviana o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una cadena liviana o una parte de ella, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR1 $X_nGNX_nX_nNIGSX_{11}AVG$ (SEQ ID NO: 317), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X_{11} es H o Y, (ii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 $GX_{12}SPX_{13}SG$ (SEQ ID NO: 318), en donde X_{12} es R o K y X_{13} es A o P y (iii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR3 $STWDSX_{14}LSAVX_{15}$ (SEQ ID NO: 319), en donde X_{14} es R o S y X_{15} es V o L; y en donde el anticuerpo o su fragmento se une con hGM-CSF con una K_D de no más de 400 pM, en otra forma de realización de menos de 160 pM, donde la K_D se determina de acuerdo con las técnicas descritas en el Ejemplo 11.

40 En otra forma de realización, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno se caracteriza porque el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF de unión a antígeno o su fragmento de unión a antígeno inhibe la proliferación de células dendríticas de sangre periférica. Conforme a ello, otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado que se une con hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento que comprende una cadena pesada o una de sus porciones y una cadena liviana o una de sus porciones. Una cadena pesada o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una parte de una cadena pesada, puede comprender V_H -CDR1, V_H -CDR2 y V_H -CDR3. En algunos aspectos, una secuencia consenso está representada por la fórmula $FTFSX_1X_2MH$ (SEQ ID NO: 314), en donde X_1 es Y o H y X_2 es G o A, que comprende V_H -CDR1. De modo similar, la fórmula $X_3X_4X_5HX_nGX_nX_6KX_7YADSVX_8G$ (SEQ ID NO: 315), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X_3 es L o V, X_4 es T o I, X_5 es Y o W, X_6 es R o K, X_7 es F o Y y X_8 es R o K, representa una secuencia consenso que comprende V_H -CDR2; y la fórmula $EX_nX_9GX_{10}X_nX_nDX_n$ (SEQ ID NO: 316), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X_9 es M o V y X_{10} es A o G, representa una secuencia consenso que comprende V_H -CDR3. Una cadena liviana o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una cadena liviana o una parte de ella, puede comprender V_L -CDR1, V_L -CDR2 y V_L -CDR3. En tal forma de realización, la fórmula $X_nGNX_nX_nNIGSX_{11}AVG$ (SEQ ID NO: 317), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X_{11} es H o Y, representa una secuencia consenso que comprende V_L -CDR1; la fórmula $GX_{12}SPX_{13}SG$ (SEQ ID NO: 318), en donde X_{12} es R o K y X_{13} es A o P, representa una secuencia consenso que comprende V_L -CDR2; y la fórmula $STWDSX_{14}LSAVX_{15}$ (SEQ ID NO: 319), representa una secuencia consenso que comprende V_L -CDR3.

En cualquiera de las formas de realización, el anticuerpo o su fragmento neutraliza la actividad de hGM-CSF. En formas de realización específicas, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento neutraliza la actividad de hGM-CSF, de modo tal que el anticuerpo o fragmento tenga un valor de IC₅₀ en un ensayo de inhibición de la proliferación de menos de 20 pM, menos de 30 pM, menos de 40 pM, menos de 50 pM, menos de 60 pM, menos de 70 pM, menos de 80 pM, menos de 90 pM o menos de 100 pM, en cada instancia, tal como se determina en un ensayo de proliferación de TF-1 realizado en ED80 y tal como se describe en Ejemplo 12. En una forma de realización específica, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno reivindicado tiene un valor de IC₅₀ que es menor de 40 pM o menor de 30 pM, tal como se determina en dicho ensayo de proliferación de TF-1 en ED80. En una forma de realización específica, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno reivindicado tiene un valor de IC₅₀ que es menor de 25 pM o menor de 20 pM, tal como se determina en dicho ensayo de proliferación de TF-1 en ED80. En otra forma de realización, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno, caracterizado porque el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno inhibe la proliferación de células TF-1 en aproximadamente un 50% a una concentración de aproximadamente 14 pM, cuando las células TF-1 se proliferan por inducción de hGM-CSF.

Tal como se demuestran con mayor detalle en los Ejemplos, EV1018 y EV1019 son ambos efectivos para neutralizar la bioactividad de hGM-CSF. Debido a que estos anticuerpos comparten sustancialmente el mismo epitopo conformacional tal como se describió con anterioridad, es posible usar el epitopo para analizar moléculas adicionales que reconocen el epitopo, como anticuerpos monoclonales o sus fragmentos. Conforme a ello, la invención también contempla métodos de análisis, en donde el epitopo de hGM-CSF, que es definido por las secuencias de polipéptidos tal como se establece en SEQ ID NO: 2 y SEQ ID NO: 3 y es reconocido por EV1018 o una de sus variantes. Este método comprende (i) analizar una muestra biológica o una biblioteca de péptidos usando una sonda que comprende el epitopo; (ii) aislar una molécula que se une específicamente con la sonda; y (iii) identificar la molécula. En una forma de realización, el método también incluye la etapa de producción de la molécula. En algunas formas de realización, la molécula identificada usando el método es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno. En algunos casos, la sonda también puede comprender un marcador detectable, que incluye, pero sin limitación, un rótulo, matriz, rótulo por afinidad, etc. De acuerdo con algunas formas de realización, la sonda se puede inmovilizar, a los fines, por ejemplo, de analizar las moléculas de unión. Los métodos de análisis son generalmente asequibles y son bien conocidos por los expertos en la técnica.

En cualquiera de las formas de realización descritas en la presente, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno puede ser cualquier subtipo de inmunoglobulina, tales como de la clase de IgG, tales como IgG₁, IgG₂ e IgG₄. Conforme a ello, en cualquiera de las formas de realización descritas en la presente, la cadena pesada puede ser, por ejemplo, de la clase gamma, tales como gamma 1 (γ₁), gamma 2 (γ₂), gamma 3 (γ₃) o gamma 4 (γ₄). En cualquiera de las formas de realización descritas con anterioridad, la cadena pesada se puede seleccionar (los residuos de los aminoácidos de la cadena pesada están seleccionados) del grupo que consiste en polipéptidos tal como se establece en SEQ ID NOs: 10-33, 38-80 y 348-363. En algunas formas de realización, se puede usar la porción de una cadena pesada, incluyendo regiones variables de una cadena pesada. Los ejemplos no limitativos de regiones variables de una cadena pesada tal como se describe en la presente descripción se proporcionan en las SEQ ID NOs: 348-363.

En los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF y sus fragmentos de unión a antígeno, la cadena liviana puede ser una cadena liviana lambda o una parte de ella o una cadena liviana kappa o una parte de ella. En formas de realización específicas, la cadena liviana lambda contiene una o las dos de las siguientes sustituciones de aminoácido: R100G y A153G (contiene la sustitución R100G, sustitución A153G o tanto la sustitución R100G como la sustitución A153G). Se ha de notar que las sustituciones en la secuencia de aminoácidos de cadenas de anticuerpo se describen en la presente haciendo referencia a una secuencia de aminoácidos de referencia apropiados, donde la designación de la posición 100 y 153 en cualquier cadena liviana o su fragmento se puede determinar de acuerdo con la invención en comparación con SEQ ID NO: 35 y SEQ ID NO: 34 como aquellas posiciones de aminoácidos correspondientes a las posiciones de aminoácidos en SEQ ID NO: 35 en donde R está reemplazado por G y A por G, respectivamente, si se compara con la secuencia en SEQ ID 34. Por ejemplo, en el caso anterior, en el que la cadena liviana lambda puede contener una o las dos de las sustituciones de aminoácidos descritas, la secuencia de aminoácidos de referencia es EV1018 de cadena liviana (EV1018-wt-original; SEQ ID NO: 34). R100G indica que R (arginina) en la posición 100 en EV 1018 de cadena liviana está sustituida con G (glicina); A153G indica que A (alanina) en la posición 153 en EV1018 de cadena liviana está sustituida con G (glicina).

En formas de realización específicas, la cadena liviana está seleccionada del grupo que consiste en polipéptidos tal como se establece en (cuyos residuos de los aminoácidos están representados por) SEQ ID NOs: 34-37 y 184-221 y 364-365. Los ejemplos de regiones variables de una cadena liviana tal como se describe en la presente se proporcionan en SEQ ID NOs: 184-201 y 364-365.

Una cadena liviana puede comprender una o una combinación de dos o más de estas sustituciones de aminoácidos, así como otras que no comprometen sustancialmente la capacidad de un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de unirse con hGM-CSF y neutralizar su actividad. En una forma de realización, la cadena liviana comprende una sustitución de aminoácido en una o ambas posiciones 100 y 153 de modo que la glicosilación no es posible en una o ambas posiciones.

La cadena pesada del anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF que se une con hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno puede comprender una o varias sustituciones de aminoácidos, tales como T97A, T97V, N95D, N95E, N95K, N95Q, N93Q/N95T, K144R, L164A y L165A. Se ha de notar que las sustituciones en la secuencia de aminoácidos de las cadenas de anticuerpo se describen en la presente haciendo referencia a una secuencia de aminoácidos de referencia apropiados y para la determinación de las posiciones, se deberá aplicar el mismo principio tal como se describió con anterioridad en el contexto con las sustituciones de R100G y A153G. Por ejemplo, en el caso anterior, en el que la cadena pesada puede contener una o varias sustituciones de aminoácidos tal como se describió, la secuencia de aminoácidos de referencia es EV1018 de cadena pesada chain (EV1018; SEQ ID NO: 10). Por ejemplo, T97A indica que la T (treonina) en la posición 97 en EV1018 de cadena pesada está sustituida con A (alanina); L164A indica que la L (leucina) en la posición 164 en EV1018 de cadena pesada está sustituida con A (alanina).

Una cadena pesada puede comprender una o una combinación de dos o más de estas sustituciones de aminoácidos, así como otras que no comprometen sustancialmente la capacidad de un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de unirse con hGM-CSF y neutralizar su actividad.

Otros detalles respecto de las formas de realización de la presente invención se destacan a continuación:

15 En una forma de realización, la cadena pesada contiene una o varias o una o una combinación de sustituciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en Q3E, T97A, T97V, N95D, N95E, N95K, N95Q, N93Q/N95T, K144R, L164A y L165A. En otra forma de realización, la cadena pesada contiene una o varias sustituciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en Q3E, T97A, T97V, N95D, N95E, N95K, N95Q, N93Q/N95T, K144R, L164A y L165A y en donde la cadena liviana contiene una o las dos de las siguientes sustituciones de aminoácido R100G y A153G.

Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF que se une con hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, en donde la V_H -CDR1 comprende residuos de los aminoácidos SYGMH (SEQ ID NO: 4) o SHAMH (SEQ ID NO: 333).

25 Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF que se une con hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, en donde la V_H -CDR2 comprende residuos de los aminoácidos LTYHHGNRKFYADSVRG (SEQ ID NO: 5).

Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF que se une con hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, en donde la V_H -CDR3 comprende residuos de los aminoácidos ESMGAINDN (SEQ ID NO: 6).

30 Otras formas de realización de la presente invención son las siguientes:

Un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF que se une con hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, en donde la V_L -CDR1 comprende residuos de los aminoácidos IGNNNNIGSHAVG (SEQ ID NO: 7);

Un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF que se une con bGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, en donde la V_L -CDR2 comprende residuos de los aminoácidos GRSPPS (SEQ ID NO: 8); y

35 Un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF que se une con hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, en donde la V_L -CDR3 comprende residuos de los aminoácidos STWDSSLSAVV (SEQ ID NO: 9).

Formas de realización adicionales de la presente invención se refieren a un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF que se une con hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, que también comprende una secuencia señal.

40 La secuencia señal puede ser cualquiera de una variedad de secuencias señal conocidas por los expertos en la técnica, como cualquier secuencia señal que es de utilidad para permitir o mejorar la expresión y/o el pasaje del producto codificado de células en las que se produce, incluyendo, pero sin limitación, una secuencia señal seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 324, 325 y 326.

En todas las formas de realización, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF puede ser un anticuerpo humano, un anticuerpo humanizado o un anticuerpo de cadena simple.

Actividad de unión de los anticuerpos

En un aspecto e inesperadamente, tal como se muestra en los Ejemplos de esta descripción, la afinidad de unión medida de anticuerpos con el antígeno (hGM-CSF) no se correlaciona linealmente con su capacidad neutralizante (por ejemplo, capacidad para neutralizar la bioactividad de hGM-CSF). Esta observación es contraria a la noción general de que una mayor afinidad corresponde a una mayor capacidad de neutralización. Por ejemplo, se halló que un anticuerpo revelado en la presente, es decir, un anticuerpo usando las CDR descritas en la presente para reconocer el epitopo

descrito en la presente, por ejemplo EV1018, muestra una inhibición más de 100 veces mayor en el ensayo de TF-1 que un anticuerpo de la técnica anterior tal como se muestra en Tabla 7, si bien la afinidad de unión era inferior al 50% de la del anticuerpo de la técnica anterior. Esto se contrapone a las enseñanzas del documento WO 2006/122797, que muestra que cuanto mayor sea la afinidad de un anticuerpo, mayor será la actividad en el ensayo de TF-1.

5 *Actividad neutralizante de los anticuerpos*

Las células mononucleares de sangre periférica humana y la línea celular tumoral TF-1 pueden proliferar en respuesta a la estimulación de hGM-CSF. La capacidad neutralizante del anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno se confirma midiendo el efecto inhibidor sobre su proliferación. Se sabe que los monocitos de sangre periférica humana y las células TF-1 pueden proliferar, cuando se cultivan en presencia de hGM-CSF. Esta proliferación se puede inhibir por adición del anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno de la presente invención en el sistema de cultivo o haciendo reaccionar primero el hGM-CSF con anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno de la presente invención y luego añadiéndolo al sistema de cultivo. Por ejemplo, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno de la presente invención puede tener, como actividad neutralizante contra células TF-1 en donde se induce la proliferación celular por hGM-CSF, una tasa citostática del 40-60% (aproximadamente 50%) en comparación con el sujeto negativo (31 pg/ml de hIgG) a una concentración de aproximadamente 2 ng/ml (aproximadamente 14 pM).

El anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno en la presente invención tiene una capacidad neutralizante por el hGM-CSF, que es mayor que el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF existente. En consecuencia, se espera que sea aplicable como agentes terapéuticos usados en menores cantidades o dosis para el tratamiento de diversas enfermedades causadas por hGM-CSF, tales como dermatitis alérgica, enfermedades autoinmunes, enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, fibrosis quística, enfermedad pulmonar intersticial, rinitis, artritis y artropatías relacionadas como artritis reumatoidea, psoriasis, leucemia mieloide y esclerosis múltiple.

Composiciones terapéuticas, kits y uso terapéutico

25 Los anticuerpos anti-hGM-CSF y los fragmentos de unión a antígeno revelados en la presente son efectivos en la neutralización de la actividad biológica de hGM-CSF y, por ende, son de utilidad para el tratamiento de una condición médica (por ejemplo, enfermedad o trastorno) que está asociada con (por ejemplo, causada por) expresión aberrante de hGM-CSF en un sujeto. Conforme a ello, este uso terapéutico debe estar comprendido por la presente invención.

30 La invención en ciertas formas de realización proporciona métodos de tratamiento de enfermedades o condiciones tal como se describe en la presente, que comprende la administración a un paciente de un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno descrito en la presente o una composición descrita en la presente.

Tal como se usa en la presente, la expresión "enfermedad o trastorno asociado con sobreexpresión de hGM-CSF" se ha de referir en general a "una enfermedad causada por hGM-CSF". La expresión debe incluir cualquier enfermedad que causa y empeora la patología, cuando un sujeto tiene GM-CSF. La expresión también incluye otras enfermedades que causan y empeoran la patofisiología. Se espera que la inhibición de la actividad biológica de GM-CSF pueda paliar los síntomas de la enfermedad asociados con un GM-CSF elevado, y/o puede paliar el avance de la enfermedad.

35 Los términos "enfermedad", "trastorno" y "condición" se usan en la presente de forma indistinta. Ellos incluyen, pero sin limitación: problemas respiratorios, enfermedades pulmonares obstructivas de diversos orígenes, enfisema pulmonar de diversos orígenes, enfermedades pulmonares restrictivas, enfermedades pulmonares intersticiales, enfermedad pulmonar intersticial, fibrosis quística, bronquitis de diversos orígenes, bronquiectasia, ARDS (síndrome de distrés respiratorio en el adulto) y todas las formas de edema pulmonar; enfermedades pulmonares obstructivas seleccionadas de entre EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica), asma, asma bronquial, asma pediátrica, asma severa, ataques agudos de asma y bronquitis crónica; enfisema pulmonar que tiene sus orígenes en EPOC (enfermedad pulmonar obstructiva crónica) o deficiencia del inhibidor de α 1-proteína; enfermedades pulmonares restrictivas seleccionadas de entre alveolitis alérgica, enfermedades pulmonares restrictivas disparadas por sustancias nocivas relacionadas con el trabajo tales como asbestosis o silicosis y restricción causada por tumores pulmonares, tales como linfangiosis carcinomatosa, carcinoma broncoalveolar y linfomas; neumonía causada por infecciones, tales como, por ejemplo, infección por virus, bacterias, hongos, protozoos, helmintos u otros agentes patógenos, neumonitis causada por diversos factores, tales como, por ejemplo, aspiración e insuficiencia cardíaca izquierda, neumonitis inducida por radiación o fibrosis, collagenosis, tales como, por ejemplo, lupus eritematoso, esclerodermia sistémica o sarcoidosis, granulomatosis tales como, por ejemplo, enfermedad de Boeck, neumonía intersticial idiopática o fibrosis pulmonar idiopática (IPF); mucoviscidosis, bronquitis causada por infección bacteriana o viral, bronquitis alérgica y bronquitis tóxica; bronquiectasia; edema pulmonar, por ejemplo, edema pulmonar tóxico después de la aspiración o inhalación de sustancias tóxicas y sustancias extrañas; rinitis, artritis y artropatías relacionadas, psoriasis, leucemia mieloide, esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer, glomerulonefritis y dermatitis atópica crónica.

45 Tal como se usan en la presente, los términos "tratar", "tratamiento" y "tratando" significa en general la administración de

un agente terapéutico a un sujeto en un intento por obtener todos o cualquiera de los siguientes resultados: la reducción o mejora del avance, gravedad y/o duración de una enfermedad, trastorno o condición asociados con expresión aberrante y/o actividad de GM-CSF humano o mejora de uno o varios de sus síntomas resultantes de la administración de una o varias terapias (por ejemplo, anticuerpos GM-CSF).

5 Tal como se usa en la presente, la expresión "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a la cantidad de una terapia (por ejemplo, un anticuerpo que se une inmunoespecíficamente con GM-CSF humano), que es suficiente para reducir la gravedad de un trastorno asociado con expresión aberrante y/o actividad de GM-CSF humano, reduce la duración de un trastorno asociado con expresión aberrante y/o actividad de GM-CSF humano, mejora uno o varios síntomas de un trastorno asociado con expresión aberrante y/o actividad de GM-CSF humano, previene el avance de un trastorno 10 asociado con expresión aberrante y/o actividad de GM-CSF humano, causa la regresión de un trastorno asociado con expresión aberrante y/o actividad de GM-CSF humano o mejora los efectos terapéuticos de otra terapia para un trastorno asociado con expresión aberrante y/o actividad de GM-CSF humano.

La cantidad de anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF administrado como por administración de una composición descrita en la presente, variará, según estas consideraciones como la condición, enfermedad o trastorno en tratamiento, 15 la edad, el género y el estado de salud del sujeto (individuo) que recibe tratamiento y la gravedad o la extensión en la que la condición, enfermedad o trastorno en tratamiento ha progresado. La dosis apropiada se puede determinar empíricamente, usando métodos conocidos y con referencia a las necesidades del sujeto. Típicamente, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o fragmento de unión a antígeno se administra al sujeto en una dosis que no excede 500 mg/dosis. También se pueden administrar dosis menores.

20 En otras formas de realización, cualquiera de los anticuerpos anti-GM-CSF y fragmentos enumerados con anterioridad se puede combinar. En algunas formas de realización, se pueden combinar 2, 3, 4, 5 o más de estos anticuerpos anti-GM-CSF, sus fragmentos o combinación.

En algunas formas de realización, cualquiera de las formas de realización descritas con anterioridad también se pueden combinar con uno o más de los anticuerpos anti-GM-CSF previamente conocidos, sus fragmentos o combinación.

25 Otra forma de realización es una composición terapéutica que comprende un (uno, al menos uno) anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno descrito en la presente. En una forma de realización, una composición terapéutica comprende uno o varios anticuerpos monoclonal anti-hGM-CSF o fragmento de unión a antígeno que reconocen el siguiente ELYK (SEQ ID NO: 2) y TMMASHYKQH (SEQ ID NO: 3) en hGM-CSF y un portador farmacéuticamente aceptable. Las composiciones terapéuticas pueden comprender cualquiera de los 30 anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno descritos en la presente, de forma individual (un tipo de anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno en una composición terapéutica) o en combinaciones tales como combinaciones de dos o más tipos de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF; dos o más tipos de sus fragmentos de unión a antígeno; uno o más tipos de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF y uno o varios tipos de sus fragmentos de unión a antígeno; uno o varios tipos de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF y dos o varios tipos de sus fragmentos de unión a antígeno; o dos o varios tipos de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF y uno o varios tipos de sus fragmentos de unión a antígeno.

40 Las formas de realización específicas son composiciones terapéuticas que comprenden un (uno o más de un) anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF y un portador farmacéuticamente aceptable, definiendo el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno como antes o en aspectos de referencia, que comprende (a) una cadena pesada o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una parte de una cadena pesada, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR1 FTFSX₁X₂MH (SEQ ID NO: 314), en donde X₁ es Y o H y X₂ es G o A, (ii) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR2 X₃X₄X₅HX_nGX_nX₆KX₇YADSVX₈G (SEQ ID NO: 315), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₃ es L o V, X₄ es T o I, X₅ es Y o W, X₆ es R o K, X₇ es F o Y y X₈ es R o K y (iii) una secuencia 45 consenso que contiene V_H -CDR3 EX_nX₉GX₁₀X_nX₁₁DX_n (SEQ ID NO: 316), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₉ es M o V y X₁₀ es A o G; y (b) una cadena liviana o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una cadena liviana o una parte de ella, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR1 X_nGNX_nX_nNIGSX₁₁AVG (SEQ ID NO: 317), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X₁₁ es H o Y, (ii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 GX₁₂SPX₁₃SG (SEQ ID NO: 318), en donde X₁₂ es R o K y X₁₃ es A o P y (iii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR3 STWDSX₁₄LSAVX₁₅ (SEQ ID NO: 319), en donde X₁₄ es R o S y X₁₅ es V o L, en donde el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento reconoce lo siguiente: ELYK (SEQ ID NO: 2) y TMMASHYKQH (SEQ ID NO: 3) en hGM-CSF.

55 Se describen en la presente composiciones que comprenden dos o varios anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF que se unen con hGM-CSF, dos o varios de sus fragmentos de unión a antígeno que se unen con hGM-CSF o a su combinación y un portador farmacéuticamente aceptable, en donde uno o varios anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF o uno o varios de sus fragmentos de unión a antígeno reconocen el epitopo discontinuo ELYK (SEQ ID NO: 2) y TMMASHYKQH (SEQ ID NO: 3) en hGM-CSF.

Otra forma de realización descrita en la presente es una composición que comprende dos o varios anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF que se unen con hGM-CSF, dos o varios de sus fragmentos de unión a antígeno o su combinación y un portador farmacéuticamente aceptable, en donde uno o varios anticuerpos o uno o varios de sus fragmentos de unión a antígeno son como se definieron con anterioridad o en aspectos de referencia, comprenden (a) una cadena pesada o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una parte de una cadena pesada, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR1 FTFSX₁X₂MH (SEQ ID NO: 314), en donde X₁ es Y o H y X₂ es G o A, (ii) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR2 X₃X₄X₅HX_nGX_nX₆KX₇YADSVX₈G (SEQ ID NO: 315), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₃ es L o V, X₄ es T o I, X₅ es Y o W, X₆ es R o K, X₇ es F o Y y X₈ es R o K y (iii) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR3 EX_nX₉GX₁₀X_nX_nDX_n (SEQ ID NO: 316), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₉ es M o V y X₁₀ es A o G; y (b) una cadena liviana o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una cadena liviana o una parte de ella, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR1 X_nGNX_nX_nMGSX₁₁AVG (SEQ ID NO: 317), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X₁₁ es H o Y, (ii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 GX₁₂SPX₁₃SG (SEQ ID NO: 318), en donde X₁₂ es R o K y X₁₃ es A o P y (iii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR3 STWDSX₁₄LSAVX₁₅ (SEQ ID NO: 319), en donde X₁₄ es R o S y X₁₅ es V o L, en donde el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento reconoce los siguientes ELYK (SEQ ID NO: 2) y TMMASHYKQH (SEQ ID NO: 3) en hGM-CSF.

Otro objeto descrito en la presente es una composición en donde al menos uno de los dos o varios anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF que se unen con hGM-CSF comprenden un polipéptido seleccionado del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 10-33, 38-80, 34-37 y 348-365. Las composiciones pueden incluir, además de uno o varios anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF descritos en la presente, otros anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF, tales como los descritos previamente. Ver, por ejemplo, la solicitud internacional PCT N.º de publicación WO 2006/122797; la solicitud internacional PCT N.º de publicación WO 2007/092939; y la solicitud internacional PCT N.º de publicación WO 2006/11353.

25 Kits

Los anticuerpos anti-hGM-CSF o sus fragmentos de unión a antígeno tal como se describen en la presente, así como la composición que comprende tales anticuerpos, se pueden proporcionar como un kit, que está así comprendido por la presente invención. Un kit se puede proporcionar en una variedad de formatos y además del medicamento (composición terapéutica), también puede incluir envasado y/o rotulado de un fármaco o dispositivo que usualmente resulta de una orden de prescripción de un médico. Un kit incluye en general un material instructivo de uso impreso. En algunas formas de realización, la composición formulada (por ejemplo, medicamento) se proporciona en uno o varios recipientes. En algunas formas de realización, un recipiente puede ser un dispositivo usado para dispensar el medicamento para administración. Por ejemplo, el medicamento de la presente invención puede ser premedido (por ejemplo, en alícuotas) en un dispensador descartable y proporcionado como un kit. En algunos casos, el recipiente es una jeringa. La jeringa puede estar opcionalmente prellenada. En algunos casos, el recipiente descartable está prellenado, presellado y es desecharable. Según las vías de administración y los modos de administración para un medicamento particular, un kit puede incluir componentes apropiados.

Medicamentos

Tal como se usa en la presente, un "portador aceptable para agente farmacéutico" incluye cualquiera o todos de solución fisiológicamente compatible, medio de dispersión, agente de recubrimiento, agente antimicrobiano o agente antifúngico, agente de ajuste osmolar y retardante de la absorción. Los ejemplos del portador aceptable para agente farmacéutico incluyen uno o varios tipos de agentes tales como agua, solución salina, solución fisiológica tamponada con fosfato, dextrosa, glicerol y etanol y combinaciones de ellos. En muchos casos, el agente de ajuste osmolar tales como azúcar, polialcohol o cloruro de sodio está incluido, con preferencia, en las composiciones. El polialcohol puede incluir manitol o sorbitol. Además, el portador aceptable para agente farmacéutico puede incluir una pequeña cantidad de sustancias auxiliares tales como humectante, emulsionante, conservante y agente tamponante. Las sustancias auxiliares pueden mejorar la conservación o la efectividad en las composiciones de anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno.

Las composiciones medicinales apropiadas para la administración parenteral pueden incorporar el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o fragmento de unión a antígeno de la presente invención. Con preferencia, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno se ajusta para la solución inyectable que contiene el anticuerpo en la cantidad de 0,1~250 mg/mL, cuando se aplica un tipo de anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno. Por otro lado, cuando se mezclan y se aplican los tipos múltiples de los anticuerpos, los anticuerpos se ajustan con preferencia para la solución de inyección que contiene los anticuerpos en la cantidad de 0,001~10 mg/mL. Por otra parte, los tipos múltiples de anticuerpos se pueden mezclar arbitrariamente en cualquiera de sus proporciones.

La solución inyectable formada en dosis líquidas o liofilizadas se puede preparar en pedernal o vial ámbar, ampolla o jeringa prellenada. Como agente tamponante, se puede usar L-histidina entre pH 15,0~7,0 (pH 6,0 es el más

apropiado). La concentración de L-histidina de 5-10 mM puede ser la más apropiada. Otros agentes apropiados para el agente tamponante pueden ser succinato de sodio, citrato de sodio, fosfato de sodio o fosfato de potasio, pero sin limitarse a ellos. El cloruro de sodio se puede aplicar al agente tamponante a fin de eliminar la toxicidad en la solución a la concentración de 0~300 mM (respecto de la dosis formada en el líquido, 150 mM es el más apropiado). La forma de 5 dosis liofilizada puede incluir un crioprotector; principalmente, la sacarosa en la relación del 0~10% (la relación del 0,5~1,0% puede ser la más apropiada). Otros agentes apropiados para el crioprotector pueden ser trehalosa y lactosa. La forma de dosificación liofilizada puede incluir expansor, principalmente incluye manitol en la relación del 1~10% (la relación del 2~4% puede ser la más apropiada). Como estabilizante, se puede aplicar principalmente L-metionina a la concentración de 1~50 mM (5~10 mM puede ser la más apropiada) a ambas dosificaciones en forma líquida o liofilizada. 10 La glicina y la arginina se incluyen en los otros expansores apropiados. El polisorbato 80 se puede incluir como un tensioactivo en la relación del 0~0,05% (la relación del 0,005~0,01% puede ser la más apropiada). Otros tensioactivos incluyen polisorbato 20 y tensioactivo BRIJ, pero sin limitarse a ellos.

Se pueden aplicar diversas formas de dosis a las composiciones en la presente invención. Por ejemplo, las 15 composiciones pueden tener las dosificaciones formadas en líquido, semisólido y sólido. La solución (por ejemplo, solución inyectable o transfundible), líquido de dispersión, líquido de suspensión, comprimido, píldora, polvo, liposoma y suppositorio están incluidos. Con preferencia, las formas de dosificación dependen del método de administración y el ejemplo terapéutico. Con preferencia, las composiciones tienen las dosificaciones formadas en líquido capaces de 20 inyección y de transfusión de fluidos. Las composiciones pueden ser preferibles para la administración parenteral (por ejemplo, se pueden mostrar administración intravenosa, administración subcutánea, administración abdominal y administración intramuscular). En la forma de realización preferida, el anticuerpo se administra por solución de infusión intravenosa o inyección intravenosa. En otra forma de realización preferida, el anticuerpo se administra por inyección intramuscular o inyección subcutánea.

Las composiciones para terapias se deben producir en general y almacenar en condiciones esterilizadas y estables. Las 25 composiciones se pueden prescribir en solución, microemulsión, líquido de dispersión, liposoma u otras estructuras apropiadas para la elevada concentración de fármaco. La solución esterilizada capaz de inyección se prepara por medio de los siguientes procedimientos. La cantidad requerida de compuestos activos (específicamente, anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno) se mezclan en un disolvente apropiado. De ser necesario, uno o la combinación de los compuestos antes mencionados se mezcla en un disolvente apropiado junto con los compuestos activos y luego se esteriliza por filtración, de modo que se prepara la solución. En general, el medio de 30 dispersión fundamental y los compuestos activos se mezclan en un vehículo esterilizado que incluye otros compuestos requeridos del medio antes mencionado. Cuando se usa polvo liofilizado esterilizado para preparar la solución inyectable esterilizada, se aplican con preferencia los métodos de secado al vacío y secado por pulverización como los métodos de preparación. Mediante el método de preparación, se obtienen otras composiciones deseables a partir del polvo de ingrediente activo y la solución esterilizada se aplica para la filtración. La fluidez de la solución se sostiene 35 apropiadamente por los siguientes medios. Los medios son, por ejemplo, aplicar material de recubrimiento tales como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula requerido para el líquido de dispersión y aplicando agente tensioactivo. Los retardantes de la absorción terapéuticos tales como ácido monoestearíco y gelatina se incluyen en las composiciones, donde las composiciones inyectables se pueden absorber en el cuerpo humano durante un largo tiempo.

El anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno de la presente invención se puede 40 administrar por medio de los diversos métodos conocidos en la técnica. Las vías de administración / métodos de administración tales como inyección subcutánea, inyección intravenosa o transfusión de fluidos se aplican con preferencia en las diversas terapias. Las vías de administración / métodos de administración dependen de los resultados esperados. Los expertos en la técnica pueden entender que implante, parche percutáneo y sistema de suministro de fármaco se incluyen en las vías / métodos de administración. En una forma de realización, el anticuerpo como la dosis 45 de liberación controlada que puede controlar la liberación de los compuestos también se aplica junto con los compuestos activos para los compuestos activos para la preparación. El polímero biocompatible tiene biodegradabilidad. La preparación puede incluir el polímero biocompatible tales como acetato de etilenvinilo, polianhídrido, ácido poliglicólico, colágeno, ésteres de poliortito y polilactato. Diversos métodos para preparar estas dosificaciones se otorgan como patentes y son conocidos en general por los expertos en la técnica.

50 En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno se administra por vía oral, por ejemplo, con el diluyente inactivo o portador comestible y absorbible. Los compuestos (y, si se desea, otros ingredientes) también se pueden encapsular en cápsula de gelatina dura o blanda, comprimir en un comprimido o directamente mezclar en comida para el sujeto. En la administración oral aplicada en terapia, los compuestos se pueden mezclar en el excipiente y se pueden usar en las formas capaces de la ingestión, tales como comprimido, tableta bucal, gragea, cápsula, elixir, líquido de suspensión, jarabe y oblea. A fin de administrar los compuestos de la presente 55 invención por medio de una vía distinta de una vía parenteral, es necesario recubrir los compuestos en materiales que evitan su inactivación y administrar los compuestos y los materiales al mismo tiempo.

Terapia de combinación

También es posible incorporar suplementariamente compuestos activos adicionales en las composiciones, en donde los

compuestos activos adicionales no incluyen un anticuerpo contra un antígeno que no es GM-CSF. En una forma de realización, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno en la presente invención se prescribe con uno o varios tipos de otros agentes terapéuticos de utilidad para remediar las enfermedades asociadas con un GM-CSF elevado o se administra con otros agentes terapéuticos al mismo tiempo, donde otros agentes terapéuticos no son anticuerpos contra una proteína distinta de GM-CSF. Por ejemplo, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno de la presente invención se prescribe con uno o varios otros anticuerpos anti-GM-CSF. La terapia combinada tiene una ventaja de que los agentes terapéuticos trabajan efectivamente en una pequeña cantidad. Los agentes terapéuticos permiten evitar la toxicidad o complicación, las cuales pueden estar acompañadas de varias monoterapias.

10 Tal como se usa en la presente, "administrado al mismo tiempo" se ha de construir ampliamente. Por ejemplo, cuando dos o más tipos de anticuerpos monoclonales anti GM-CSF o fragmentos de unión a antígeno se administran a un paciente, cada uno o varios de los anticuerpos o sus fragmentos se pueden proporcionar o no como un medicamento único (por ejemplo, composición). En algunas formas de realización, un medicamento único (por ejemplo, composición) comprende todos los diferentes tipos de los anticuerpos monoclonales anti GM-CSF o sus fragmentos de unión a antígeno que se administran al sujeto, de modo tal que los anticuerpos o sus fragmentos de unión a antígeno se presentan simultáneamente al paciente como una mezcla. En algunas formas de realización, sin embargo, dos o más medicamentos (por ejemplo, composiciones) que comprenden uno o varios tipos de anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno se administran por separado al sujeto. Cuando se administran "por separado", los medicamentos se pueden administrar de forma secuencial, por ejemplo, uno tras otro. Se construye para ser administrado "al mismo tiempo" siempre y cuando el efecto de un primer medicamento y el del posterior medicamento (segundo, tercero, etc.) se superpongan en tiempo y en células / tejidos objeto en el sujeto, efectuando así un mejor rendimiento terapéutico (por ejemplo, sinérgico).

25 En especial, cuando se aplican más de un tipo de los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF de la presente invención, es posible proporcionar actividad inhibidora del crecimiento celular (bioactividad neutralizante) que es mucho mayor que la proporcionada por un tipo de anticuerpo monoclonal en la composición medicinal. En consecuencia, es posible proporcionar el agente terapéutico requerido en su menor cantidad.

30 Conforme a ello, se proporcionan métodos para mejorar la actividad, caracterizados porque dos o más tipos de anticuerpos monoclonales anti GM-CSF o las composiciones medicinales o las composiciones farmacológicas veterinarias se administran al mismo tiempo, caracterizados porque se incluyen dos o más tipos de anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno, estando seleccionados los dos o más tipos de los anticuerpos de los siguientes (a) y (b):

35 (a) anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que tiene regiones determinantes de la complementariedad (CDR) representadas por secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 4 a 9 y que es específico de hGM-CSF,

(b) anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno de (a) que tiene una secuencia de aminoácidos en donde uno o varios aminoácidos están sustituidos, deleticados, insertados o añadidos y que es específico de hGM-CSF.

40 De la misma manera, la presente invención también incluye un método para mejorar la actividad, caracterizado porque se administran muchos diferentes tipos (descritos como "tipos plurales" de ahora en adelante) de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF de la invención de forma simultánea o las composiciones medicinales o las composiciones farmacológicas veterinarias que comprenden los tipos múltiples de anticuerpos anti-hGM-CSF de la invención.

45 En cualquiera de las formas de realización, la composición puede comprender un tipo de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF o sus fragmentos de unión a antígeno que son capaces de neutralizar la actividad de hGM-CSF. De modo alternativo, en cualquiera de las formas de realización, la composición puede comprender dos o varios tipos de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF o sus fragmentos de unión a antígeno que son capaces de neutralizar la actividad de hGM-CSF. Los anticuerpos monoclonales y/o sus fragmentos en estas composiciones pueden incluir, además de uno o varios anticuerpos o su fragmento revelados en la presente, los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF y/o sus fragmentos previamente revelados. Los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF y sus fragmentos de unión a antígeno y composiciones terapéuticas, composiciones medicinales y composiciones farmacéuticas que comprenden estos anticuerpos y/o sus fragmentos de unión a antígeno se pueden usar para tratar o prevenir enfermedades, trastornos o condiciones causadas por hGM-CSF y/o asociadas con su sobreexpresión (respecto del nivel de expresión de hGM-CSF en un control, como un individuo que no tiene la enfermedad, condición o trastorno).

50 Las composiciones medicinales que incluyen portadores farmacéuticamente aceptables en el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno se consideran efectivas contra las enfermedades causadas por hGM-CSF. Las enfermedades causadas por la producción excesiva del hGM-CSF se pueden ilustrar como

55 (a) enfermedad alérgica como asma, atopía y polinosis,

(b) rechazo al injerto, enfermedad de injerto versus huésped (GVHD) y

(c) enfermedad autoinmune tales como artritis reumatoidea.

Sin pretender quedar limitado por cualquier mecanismo en particular, se cree que la sobreexpresión de GM-CSF al menos en parte causa un grupo de enfermedades o trastornos tales como los enumerados en la presente. Sin embargo, 5 también es posible que estas condiciones clínicas puedan ser causadas por alteración de otras vías biológicas relacionadas, tales como la regulación hacia arriba de los correspondientes receptores o mutaciones en una o varias vías efectoras. Así, "enfermedad o trastorno asociado con sobreexpresión de hGM-CSF" ha de incluir estas condiciones que llevan a un rendimiento equivalente a sobreexpresión de hGM-CSF.

Fabricación / preparación

10 En una forma de realización, la invención es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno tal como se describe en la presente para usar en medicina.

El uso de un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno, tal como se describe en la 15 presente, para la fabricación o preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociados con sobreexpresión de hGM-CSF (niveles causados por GM-CSF, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno se une con hGM-CSF y es capaz de neutralizar la actividad de hGM-CSF), también es una forma de realización. Estos anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF y sus fragmentos de unión a antígeno pueden ser cualquiera de los descritos en la presente.

El uso de un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno que reconoce ELYK (SEQ ID NO: 2) y TMMASHYKQH (SEQ ID NO: 3) en hGM-CSF para la fabricación o preparación de un medicamento es otra forma de realización.

20 Otra forma de realización es el uso de anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF y/o sus fragmentos de unión a antígeno para la fabricación o preparación de un medicamento, en donde el anticuerpo o su fragmento es como se definió con anterioridad, o en un aspecto de referencia, comprende (a) una cadena pesada o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una parte de una cadena pesada, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR1 FTFSX₁X₂MH (SEQ ID NO: 314), en donde X₁ es Y o H y X₂ es G o A, (ii) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR2 X₃X₄X₅HX_nX₆KX₇YADSVX₈G (SEQ ID NO: 315), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₃ es L o V, X₄ es T o I, X₅ es Y o W, X₆ es R o K, X₇ es F o Y y X₈ es R o K y (iii) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR3 EX_nX₉GX₁₀X_nDX_n (SEQ ID NO: 316), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₉ es M o V y X₁₀ es A o G; y (b) una cadena liviana o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una cadena liviana o una parte de ella, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR1 25 X_nGNX_nX_nNIGSX₁₁AVG (SEQ ID NO: 317), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X₁₁ es H o Y, (ii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 GX₁₂SPX₁₃SG (SEQ ID NO: 318), en donde X₁₂ es R o K y X₁₃ es A o P y (iii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR3 STWDSX₁₄LSAVX₁₅ (SEQ ID NO: 319), en donde X₁₄ es R o S y X₁₅ es V o L.

30 En otro aspecto, la invención proporciona anticuerpos anti-hGM-CSF aislados o fragmentos de unión a antígeno de tales anticuerpos que son de utilidad para la fabricación de medicamentos. Estos medicamentos son de utilidad para el tratamiento de una enfermedad, condición o trastorno asociados con expresión aberrante (por ejemplo, sobreexpresión) de hGM-CSF. Cualquiera de los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF o sus fragmentos de unión a antígeno descritos en la presente se pueden usar para la fabricación de un medicamento para esta finalidad.

35 Los anticuerpos o fragmentos de unión a antígeno reconocen ELYK (SEQ ID NO: 2) y TMMASHYKQH (SEQ ID NO: 3) en hGM-CSF.

40 En un aspecto de referencia, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende (a) una cadena pesada o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una parte de una cadena pesada, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR1 FTFSX₁X₂MH (SEQ ID NO: 314), en donde X₁ es Y o H y X₂ es G o A, (ii) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR2 X₃X₄X₅HX_nX₆KX₇YADSVX₈G (SEQ ID NO: 315), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₃ es L o V, X₄ es T o I, X₅ es Y o W, X₆ es R o K, X₇ es F o Y y X₈ es R o K y (iii) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR3 EX_nX₉GX₁₀X_nDX_n (SEQ ID NO: 316), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₉ es M o V y X₁₀ es A o G; y (b) una cadena liviana o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una cadena liviana o una parte de ella, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR1 X_nGNX_nX_nNIGSX₁₁AVG (SEQ ID NO: 317), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X₁₁ es H o Y, (ii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 GX₁₂SPX₁₃SG (SEQ ID NO: 318), en donde X₁₂ es R o K y X₁₃ es A o P y (iii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR3 STWDSX₁₄LSAVX₁₅ (SEQ ID NO: 319), en donde X₁₄ es R o S y X₁₅ es V o L. En una forma de realización de la invención, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno se une con hGM-CSF con una K_D de no más de 400 pM, en otra forma de realización menos de aproximadamente 160 pM (como EV1018 o EV1019), donde la K_D se determina de acuerdo con las técnicas descritas en los Ejemplos.

En otras formas de realización, cualquiera de los anticuerpos anti-GM-CSF y fragmentos enumerados con anterioridad se pueden combinar. En algunas formas de realización, 2, 3, 4, 5 o más de tales anticuerpos anti-GM-CSF, sus fragmentos o combinación se pueden combinar.

Producción de anticuerpos y fragmentos, de ADN y vectores

5 Abajo se describe la producción de un anticuerpo originador que reconoce el epitopo discontinuo proporcionado en la invención; sin embargo, no se ha de construir como limitativo del método particular. Las características descritas se pueden sustituir en el campo tecnológico sin apartarse del alcance de la invención.

10 El anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF y su porción de unión a antígeno de la presente invención derivaron de la sangre obtenida de un paciente con proteinosis alveolar idiopática a través de las siguientes etapas: aislamiento de un clon celular para producir el anticuerpo, selección de una célula positiva de anticuerpo de la biblioteca obtenida de células que producen anticuerpos y purificación del anticuerpo obtenido del sobrenadante de la célula positiva de anticuerpo por purificación por afinidad.

1) Separación de un clon de célula productora de anticuerpo completamente humano contra hGM-CSF.

15 Se aísla linfocito B de la sangre de un paciente que está padeciendo de proteinosis alveolar idiopática (IPAP) y tiene un alto nivel de anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF en el suero de la sangre. A continuación, se induce linfocito B para su proliferación. El método para inducir su proliferación es bien conocido. Como el ejemplo, se aplica un factor inducible de cáncer, "virus de Epstein-Barr" (descrito como EBV de ahora en adelante en la presente) en el método transformado (D. Kozbor et al.) para la proliferación inducida. Más específicamente, el linfocito B se infecta con EBV y se induce para su proliferación. Las células proliferadas se mantienen para una biblioteca de las células que producen anticuerpos.

20 2) Aislamiento del monoclonal anticuerpo de la biblioteca de las células que producen anticuerpos.

Usando el método conocido comúnmente aplicado para producir anticuerpos monoclonales, se selecciona una célula monoclonal de las células proliferadas inducidas.

25 De la biblioteca de células que producen anticuerpos, el linfocito se selecciona a fin de producir el anticuerpo que se une con hGM-CSF. Más específicamente, la población celular (clones) que producen anticuerpo que se une con hGM-CSF se selecciona limitando el método de dilución. Es preferible emplear ELISA usando hGM-CSF y anticuerpo anti-hIgG de ratón rotulado para detectar una fracción que se une con hGM-CSF. La población celular (clones) que produce sólo el anticuerpo deseado se obtiene cultivando la célula seleccionada positiva de anticuerpo y analizándola repetidamente. Estas etapas hasta el "aislamiento de un clon de célula productora de anticuerpo" se ilustran en un diagrama de flujo mostrado en la Fig. 1.

30 3) Purificación por afinidad usando proteína A o proteína G.

35 Cuando se purifica el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF, es posible cultivar la célula inmortalizada seleccionada en una botella con rodillo, matraz de agitación de 2 litros u otros sistemas de cultivo. El sobrenadante se filtra y se concentra. A continuación, la proteína se purifica por cromatografía por afinidad con proteína A-sefarosa o proteína G-sefarosa, etc, (New Jersey, Piscataway, Pharmacia Corp.). Despues del intercambio de la solución tamponante con PBS, la concentración de la proteína se mide por DO a 280 nm o con preferencia por análisis con nefelómetro. El isotipo de anticuerpo se examina por un método específico de antígeno contra isótipo de antígeno.

40 El anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF obtenido es un anticuerpo humano completo producido de linfocito B sensibilizado en el cuerpo humano, donde el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF raramente muestra la inmunorreacción contra el anticuerpo. Si bien la célula que produce anticuerpo se clona, el linfocito B se infecta con virus EB y se induce su proliferación por la actividad del virus EB. Conforme a ello, se caracteriza que la célula que produce anticuerpo se clona por aplicación de tal actividad del virus EB. El método de virus EB tiene una ventaja de producir un anticuerpo natural en un cuerpo humano y obtener anticuerpo con alta afinidad. Por ejemplo, la afinidad del anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF es 10-100 veces mayor que un anticuerpo producido por ratón artificialmente inmunizado. Una biblioteca incluye un grupo de linfocitos B proliferados por infección del virus EB. Es posible aislar un clon de células específicas que producen anticuerpo de la biblioteca y obtener un anticuerpo humano.

45 Tal como se mencionó con anterioridad, las características descritas pueden estar sustituidas o convertidas en el campo tecnológico sin apartarse del alcance de la invención. Un ácido nucleico, un vector y una célula huésped pueden expresar anticuerpo recombinante o su porción de unión a antígeno en la presente invención. También se incluyen en la presente invención.

50 Se muestran en las tablas de abajo variantes de la cadena pesada y variantes de la cadena liviana de EV1018 y variantes de la cadena pesada y variantes de la cadena liviana de EV 1019. Las tablas proporcionan, respectivamente, las variantes para las cadenas pesadas y livianas de EV1018 y las variantes para las cadenas pesadas y livianas de EV 1019 y hacen posible identificar todas las posibles combinaciones de una cadena pesada y una cadena liviana para

cada uno de de EV1018 y EV1019. Un experto en la técnica puede producir cualquiera de las combinaciones, usando métodos conocidos en la técnica y la información proporcionada en la presente.

En otro aspecto, se revela en la presente un proceso (método) para producir un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno. Típicamente, un método para producir un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno comprende obtener o producir ADN que consiste esencialmente en ADN que codifica una inmunoglobulina que consiste en una cadena pesada y una cadena liviana o región Fab; insertar el ADN producido en un vector de expresión replicable de tal manera que esté ligado operativamente a un promotor apropiado, produciendo así un vector que comprende el ADN operativamente ligado a un promotor apropiado; introducir el vector en una célula huésped, produciendo así una célula huésped que contiene el vector; cultivar la célula huésped en condiciones apropiadas para la expresión del ADN y producción de los péptidos codificados y el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o fragmento de unión a antígeno. El anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF resultante o fragmento de unión a antígeno se puede recuperar de la célula huésped o cultivo de célula huésped por medio de métodos conocidos en la técnica.

Más específicamente, el proceso comprende la producción de al menos V_H -CDR1, V_H -CDR2 y V_H -CDR3 y V_L -CDR1, V_L -CDR2 y V_L -CDR3 en una célula huésped. El método comprende la introducción en un ADN apropiado de célula huésped que codifica V_H -CDR1, V_H -CDR2, V_H -CDR3, V_L -CDR1, V_L -CDR2 y V_L -CDR3, manteniendo la célula huésped resultante (célula huésped que contiene ADN que codifica V_H -CDR1, V_H -CDR2, V_H -CDR3, V_L -CDR1, V_L -CDR2, V_L -CDR3) en condiciones apropiadas para la expresión del ADN (producción de los péptidos codificados) y formación/reunión del anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o fragmento de unión a antígeno produciendo así el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o fragmento de unión a antígeno. En un aspecto de referencia, el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno incluye (a) una cadena pesada o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una parte de una cadena pesada, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR1 FTFSX₁X₂MH (SEQ ID NO: 314), en donde X₁ es Y o H y X₂ es G o A, (ii) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR2 X₃X₄X₅HX_nGX_nX₆KX₇YADSVX₈G (SEQ ID NO: 315), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₃ es L o V, X₄ es T o I, X₅ es Y o W, X₆ es R o K, X₇ es F o Y y X₈ es R o K y (iii) una secuencia consenso que contiene V_H -CDR3 EX_nX₉GX₁₀X_nDX_n (SEQ ID NO: 316), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₉ es M o V y X₁₀ es A o G; y (b) una cadena liviana o, en el caso de un fragmento de anticuerpo, una cadena liviana o una parte de ella, que comprende (i) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR1 X_nGNX_nX_nNIGSX₁₁AVG (SEQ ID NO: 317), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X₁₁ es H o Y, (ii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 GX₁₂SPX₁₃SG (SEQ ID NO: 318), en donde X₁₂ es R o K y X₁₃ es A o P y (iii) una secuencia consenso que contiene V_L -CDR3 STWDSX₁₄LSAVX₁₅ (SEQ ID NO: 319), en donde X₁₄ es R o S y X₁₅ es V o L; y el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o fragmento de unión a antígeno producido se une con hGM-CSF. El ADN que codifica V_H -CDR1, V_H -CDR2, V_H -CDR3, V_L -CDR1, V_L -CDR2 y V_L -CDR3 puede ser una o múltiples unidades (por ejemplo, todos los componentes V_H / V_L pueden ser codificados por un ADN, algunos o todos los componentes pueden ser codificados por ADN separado).

Por ejemplo, un primer ADN puede codificar una cadena pesada completa y un segundo ADN puede codificar una cadena liviana completa. La cadena pesada completa se puede seleccionar del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 10-33, 38-80 y la cadena liviana completa se puede seleccionar del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 34-37. En una forma de realización, la cadena pesada completa está seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 10-33 y 38-80 y la cadena liviana completa está seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 34-37.

El proceso también puede comprender el aislamiento del anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno.

También es objeto de la presente un vector que comprende ADN que codifica V_H -CDR1, y/o V_H -CDR2, y/o V_H -CDR3. V_H -CDR1 es SYGMH (SEQ ID NO: 4), V_H -CDR2 es LTYHHGNRKFYADSVRG (SEQ ID NO: 5) y V_H -CDR3 es ESMGAINNDN (SEQ ID NO: 6).

También es objeto de la presente un vector que comprende ADN que codifica V_L -CDR1, V_L -CDR2 y V_L -CDR3, en donde V_L -CDR1 es IGN>NNNIGSHAVG (SEQ ID NO: 7), V_L -CDR2 es GRSPPS (SEQ ID NO: 8) y V_L -CDR3 es STWDSSLSAVV (SEQ ID NO: 9).

Por ejemplo, las secuencias líderes de la cadena pesada y la cadena liviana se clavan en el proceso de maduración de las proteínas. Las secuencias líderes clivadas no tienen efecto sobre las propiedades finales del anticuerpo. Para complementar la secuencia suprimida, el cADN clonado se integra con el oligonucleótido sintético en la ligación o el método de amplificación por PCR. Las expresiones "secuencia líder" y "secuencia señal" se usan de modo indistinto en la presente.

En un proceso alternativo, se sintetiza una región variable completa con un par de oligonucleótidos superpuestos cortos y luego el oligonucleótido resultante se amplifica en un método de amplificación por PCR, de modo de obtener enteramente un clon artificial de una región variable.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un ácido desoxirribonucleico aislado (ADN) que codifica el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno capaz de unirse con hGM-CSF y neutralizar la bioactividad del hGM-CSF, en donde el ADN aislado comprende una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de aminoácidos que comprende al menos una selecciónada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 4 a 9.

5 Cuando un ácido desoxirribonucleico aislado (ADN) codifica el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno capaz de unirse con hGM-CSF y neutralizar la bioactividad del hGM-CSF, también se incorpora el siguiente anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno en la presente invención:

el ADN aislado capaz de hibridar con el ADN descrito con anterioridad en condiciones rigurosas.

A continuación, el vector y la célula huésped también se incorporan en la presente invención:

10 1) un vector que incorpora el ADN aislado
2) una célula huésped integrada con el vector de expresión recombinante.

Por otra parte, también es posible obtener un anticuerpo específico expresan un anticuerpo scFv diversificado (fragmento monocatenario de región variable) preparado por shuffling artificial de genes de V_H y V_L como proteína de fusión de fagos, usando un método de visualización de fagos recién desarrollado que utiliza una técnica de ingeniería genética para expresar un anticuerpo recombinante en la superficie del fago.

15 Un fragmento de anticuerpo de acuerdo con la invención se puede obtener por medio de cualquier método conocido por el experto en la técnica, por ejemplo, expresión recombinante de fragmentos que se codifican por formas truncadas del ADN que codifica el anticuerpo o por degradación proteolítica de cadenas de aminoácidos de anticuerpos, donde el experto en la técnica aplica ensayos biológicos estándar, por ejemplo, como los descritos en la presente, para 20 determinar cuáles de los fragmentos mantenían la función de unión a antígeno o la actividad neutralizante.

Anticuerpos específicos de la invención

La invención proporciona el anticuerpo EV1018 en sí y numerosas variaciones (por ejemplo, variantes) del anticuerpo EV1018, tal como se resume en la Tabla A. En ciertas formas de realización, una cadena pesada contiene una o varias sustituciones de aminoácidos respecto de la secuencia de cadena pesada de tipo salvaje. En algunas formas de realización, una cadena liviana contiene una o varias sustituciones de aminoácidos respecto de la secuencia de cadena liviana EV1018 de tipo salvaje. En algunas formas de realización, una cadena pesada y una cadena liviana contienen, cada una de ellas, una o varias sustituciones de aminoácidos.

En algunas formas de realización, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende la cadena liviana, EV1018-wt-original (SEQ ID NO: 34) y una de las siguientes variantes de cadena pesada: EV1018 (SEQ ID NO: 10),

30 EV1018-wt-IgG1KO (SEQ ID NO: 11), EV1018-T97A-IgG1KO (SEQ ID NO: 12), EV1018-T97V-IgG1KO (SEQ ID NO: 13), EV1018-N95D-IgG1KO (SEQ ID NO: 14), EV1018-N95E IgG1KO (SEQ ID NO: 15), EV1018-N95K IgG1KO (SEQ ID NO: 16), EV1018-N95Q IgG1KO (SEQ ID NO: 17), EV1018-N93Q-N95T IgG1KO (SEQ ID NO: 18), EV1018-wt IgG1-BI (SEQ ID NO: 19), EV1018-T97A IgG1-BI (SEQ ID NO: 20), EV1018-T97V IgG1-BI (SEQ ID NO: 21), EV1018-N95D IgG1-BI (SEQ ID NO: 22), EV1018-N95E IgG1-BI (SEQ ID NO: 23), EV1018-N95K IgG1-BI (SEQ ID NO: 24), EV1018-N95Q IgG1-BI (SEQ ID NO: 25), EV1018-N93Q-N95T IgG1-BI (SEQ ID NO: 26), EV1018-T97A IgG1 original constante (SEQ ID NO: 27), EV1018-T97V IgG1 original constante (SEQ ID NO: 28), EV1018-N95D IgG1 original constante (SEQ ID NO: 29), EV1018-N95E IgG1 original constante (SEQ ID NO: 30), EV1018-N95K IgG1 original constante (SEQ ID NO: 31), EV1018-N95Q IgG1 original constante (SEQ ID NO: 32), EV1018-N93Q-N95T IgG1 original constante (SEQ ID NO: 33), EV1018-wt-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 38), EV1018-T97A-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 39), EV1018-T97V-

35 IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 40), EV1018-N95D-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 41), EV1018-N95E IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 42), EV1018-N95K IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 43), EV1018-N95Q IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 44), EV1018-N93Q-N95T IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 45), EV1018-wt IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 46), EV1018-T97A IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 47), EV1018-T97V IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 48), EV1018-N95D IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 49), EV1018-N95E IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 50), EV1018-N95K IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 51), EV1018-

40 N95Q IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 52), EV1018-N93Q-N95T IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 53), EV1018-IgG2 (SEQ ID NO: 54), EV1018-wt-IgG2 (SEQ ID NO: 55), EV1018-T97A-IgG2 (SEQ ID NO: 56), EV1018-T97V-IgG2 (SEQ ID NO: 57), EV1018-N95D-IgG2 (SEQ ID NO: 58), EV1018-N95E IgG2 (SEQ ID NO: 59), EV1018-N95K IgG2 (SEQ ID NO: 60), EV1018-N95Q IgG2 (SEQ ID NO: 61), EV1018-N93Q-N95T IgG2 (SEQ ID NO: 62), EV1018-IgG4 (SEQ ID NO: 63), .

45 EV1018-wt-IgG4 (SEQ ID NO: 64), EV1018-T97A-IgG4 (SEQ ID NO: 65), EV1018-T97V-IgG4 (SEQ ID NO: 66), EV1018-N95D-IgG4 (SEQ ID NO: 67), EV1018-N95E IgG4 (SEQ ID NO: 68), EV1018-N95K IgG4 (SEQ ID NO: 69), EV1018-N95Q IgG4 (SEQ ID NO: 70), EV1018-N93Q-N95T IgG4 (SEQ ID NO: 71), EV1018-IgG4-SP (SEQ ID NO: 72), EV1018-wt-IgG4-SP (SEQ ID NO: 73), EV1018-T97A-IgG4-SP (SEQ ID NO: 74), EV1018-T97V-IgG4-SP (SEQ ID NO: 75), EV1018-N95D-IgG4-SP (SEQ ID NO: 76), EV1018-N95E IgG4-SP (SEQ ID NO: 77), EV1018-N95K IgG4-SP (SEQ ID NO: 78), EV1018-N95Q IgG4-SP (SEQ ID NO: 79) y EV1018-N93Q-N95T IgG4-SP (SEQ ID NO: 80).

55 55 En algunas formas de realización, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende la cadena liviana,

EV1018-wt-BI (SEQ ID NO: 35) y una de las siguientes variantes de cadena pesada: EV1018 (SEQ ID NO: 10), EV1018-wt-IgG1KO (SEQ ID NO: 11), EV1018-T97A-IgG1KO (SEQ ID NO: 12), EV1018-T97V-IgG1KO (SEQ ID NO: 13), EV1018-N95D-IgG1KO (SEQ ID NO: 14), EV1018-N95E IgG1KO (SEQ ID NO: 15), EV1018-N95K IgG1KO (SEQ ID NO: 16), EV1018-N95Q IgG1KO (SEQ ID NO: 17), EV1018-N93Q-N95T IgG1KO (SEQ ID NO: 18), EV1018-wt IgG1-BI (SEQ ID NO: 19), EV1018-T97AlgG1-BI (SEQ ID NO: 20), EV1018-T97V IgG1-BI (SEQ ID NO: 21), EV1018-N95D IgG1-BI (SEQ ID NO: 22), EV1018-N95E IgG1-BI (SEQ ID NO: 23), EV1018-N95K IgG1-BI (SEQ ID NO: 24), EV1018-N95Q IgG1-BI (SEQ ID NO: 25), EV1018-N93Q-N95T IgG1-BI (SEQ ID NO: 26), EV1018-T97AlgG1 original constante (SEQ ID NO: 27), EV1018-T97V IgG1 original constante (SEQ ID NO: 28), EV1018-N95D IgG1 original constante (SEQ ID NO: 29), EV1018-N95E IgG1 original constante (SEQ ID NO: 30), EV1018-N95K IgG1 original constante (SEQ ID NO: 31), EV1018-N95Q IgG1 original constante (SEQ ID NO: 32), EV1018-N93Q-N95T IgG1 original constante (SEQ ID NO: 33), EV1018-wt-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 38), EV1018-T97A-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 39), EV1018-T97V-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 40), EV1018-N95D-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 41), EV1018-N95E IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 42), EV1018-N95K IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 43), EV1018-N95Q IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 44), EV1018-N93Q-N95T IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 45), EV1018-wt IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 46), EV1018-T97A IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 47), EV1018-T97V IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 48), EV1018-N95D IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 49), EV1018-N95E IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 50), EV1018-N95K IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 51), EV1018-N95Q IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 52), EV1018-N93Q-N95T IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 53), EV1018-IgG2 (SEQ ID NO: 54), EV1018-wt-IgG2 (SEQ ID NO: 55), EV1018-T97A-IgG2 (SEQ ID NO: 56), EV1018-T97V-IgG2 (SEQ ID NO: 57), EV1018-N95D-IgG2 (SEQ ID NO: 58), EV1018-N95E-IgG2 (SEQ ID NO: 59), EV1018-N95K-IgG2 (SEQ ID NO: 60), EV1018-N95Q-IgG2 (SEQ ID NO: 61), EV1018-N93Q-N95T-IgG2 (SEQ ID NO: 62), EV1018-IgG4 (SEQ ID NO: 63), EV1018-wt-IgG4 (SEQ ID NO: 64), EV1018-T97A-IgG4 (SEQ ID NO: 65), EV1018-T97V-IgG4 (SEQ ID NO: 66), EV1018-N95D-IgG4 (SEQ ID NO: 67), EV1018-N95E-IgG4 (SEQ ID NO: 68), EV1018-N95K-IgG4 (SEQ ID NO: 69), EV1018-N95Q-IgG4 (SEQ ID NO: 70), EV1018-N93Q-N95T-IgG4 (SEQ ID NO: 71), EV1018-IgG4-SP (SEQ ID NO: 72), EV1018-wt-IgG4-SP (SEQ ID NO: 73), EV1018-T97A-IgG4-SP (SEQ ID NO: 74), EV1018-T97V-IgG4-SP (SEQ ID NO: 75), EV1018-N95D-IgG4-SP (SEQ ID NO: 76), EV1018-N95E-IgG4-SP (SEQ ID NO: 77), EV1018-N95K-IgG4-SP (SEQ ID NO: 78), EV1018-N95Q-IgG4-SP (SEQ ID NO: 79) y EV1018-N93Q-N95T-IgG4-SP (SEQ ID NO: 80).

En algunas formas de realización, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende la cadena liviana, EV1018-wt-B12 (G1) (SEQ ID NO: 36) y una de las siguientes variantes de cadena pesada: EV1018 (SEQ ID NO: 10), EV1018-wt-IgG1KO (SEQ ID NO: 11), EV1018-T97A-IgG1KO (SEQ ID NO: 12), EV1018-T97V-IgG1KO (SEQ ID NO: 13), EV1018-N95D-IgG1KO (SEQ ID NO: 14), EV1018-N95E IgG1KO(SEQ ID NO: 15), EV1018-N95K IgG1KO (SEQ ID NO: 16), EV1018-N95Q IgG1KO (SEQ ID NO: 17), EV1018-N93Q-N95T IgG1KO (SEQ ID NO: 18), EV1018-wt IgG1-B1 (SEQ ID NO: 19), EV1018-T97AlgG1-B1 (SEQ ID NO: 20), EV1018-T97V IgG1-B1 (SEQ ID NO: 21), EV1018-N95D IgG1-B1 (SEQ ID NO: 22), EV1018-N95E IgG1-B1 (SEQ ID NO: 23), EV1018-N95K IgG1-B1 (SEQ ID NO: 24), EV1018-N95Q IgG1-B1 (SEQ ID NO: 25), EV1018-N93Q-N95T IgG1-B1 (SEQ ID NO: 26), EV1018-T97A IgG1 original constante (SEQ ID NO: 27), EV1018-T97V IgG1 original constante (SEQ ID NO: 28), EV1018-N95D IgG1 original constante (SEQ ID NO: 29), EV1018-N95E IgG1 original constante (SEQ ID NO: 30), EV1018-N95K IgG1 original constante (SEQ ID NO: 31), EV1018-N95Q IgG1 original constante (SEQ ID NO: 32), EV1018-N93Q-N95T IgG1 original constante (SEQ ID NO: 33), EV1018-wt-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 38), EV1018-T97A-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 39), EV1018-T97V-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 40), EV1018-N95D-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 41), EV1018-N95E IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 42), EV1018-N95K IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 43), EV1018-N95Q IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 44), EV1018-N93Q-N95T IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 45), EV1018-wt IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 46), EV1018-T97AlgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 47), EV1018-T97V IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 48), EV1018-N95D IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 49), EV1018-N95E IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 50), EV1018-N95K IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 51), EV1018-N95Q IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 52), EV1018-N93Q-N95T IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 53), EV1018-IgG2 (SEQ ID NO: 54), EV1018-wt-IgG2 (SEQ ID NO: 55), EV1018-T97A-IgG2 (SEQ ID NO: 56), EV1018-T97V-IgG2 (SEQ ID NO: 57), EV1018-N95D-IgG2 (SEQ ID NO: 58), EV1018-N95E-IgG2 (SEQ ID NO: 59), EV1018-N95K-IgG2 (SEQ ID NO: 60), EV1018-N95Q-IgG2 (SEQ ID NO: 61), EV1018-N93Q-N95T-IgG2 (SEQ ID NO: 62), EV1018-IgG4 (SEQ ID NO: 63), EV1018-wt-IgG4 (SEQ ID NO: 64), EV1018-T97A-IgG4 (SEQ ID NO: 65), EV1018-T97V-IgG4 (SEQ ID NO: 66), EV1018-N95D-IgG4 (SEQ ID NO: 67), EV1018-N95E-IgG4 (SEQ ID NO: 68), EV1018-N95K-IgG4 (SEQ ID NO: 69), EV1018-N95Q-IgG4 (SEQ ID NO: 70), EV1018-N93Q-N95TlgG4 (SEQ ID NO: 71), EV1018-IgG4-SP (SEQ ID NO: 72), EV1018-wt-IgG4-SP (SEQ ID NO: 73), EV1018-T97A-IgG4-SP (SEQ ID NO: 74), EV1018-T97V-IgG4-SP (SEQ ID NO: 75), EV1018-N95D-IgG4-SP (SEQ ID NO: 76), EV1018-N95E-IgG4-SP (SEQ ID NO: 77), EV1018-N95K-IgG4-SP (SEQ ID NO: 78), EV1018-N95Q-IgG4-SP (SEQ ID NO: 79) y EV1018-N93Q-N95T-IgG4-SP (SEQ ID NO: 80).

constante (SEQ ID NO: 29), EV1018-N95E IgG1 original constante (SEQ ID NO: 30), EV1018-N95K IgG1 original constante (SEQ ID NO: 31), EV1018-N95Q IgG1 original constante (SEQ ID NO: 32), EV1018-N93Q-N95T IgG1 original constante (SEQ ID NO: 33), EV1018-wt-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 38), EV1018-T97A-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 39), EV1018-T97V-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 40), EV1018-N95D-IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 41), EV1018-N95E IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 42), EV1018-N95K IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 43), EV1018-N95Q IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 44), EV1018-N93Q-N95T IgG1-KO-QVQL (SEQ ID NO: 45), EV1018-wt IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 46), EV1018-T97A IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 47), EV1018-T97V IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 48), EV1018-N95D IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 49), EV1018-N95E IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 50), EV1018-N95K IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 51), EV1018-N95Q IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 52), EV1018-N93Q-N95T IgG1-QVQL-BI (SEQ ID NO: 53), EV1018-IgG2 (SEQ ID NO: 54), EV1018-wt-IgG2 (SEQ ID NO: 55), EV1018-T97A-IgG2 (SEQ ID NO: 56), EV1018-T97V-IgG2 (SEQ ID NO: 57), EV1018-N95D-IgG2 (SEQ ID NO: 58), EV1018-N95E-IgG2 (SEQ ID NO: 59), EV1018-N95K-IgG2 (SEQ ID NO: 60), EV1018-N95Q-IgG2 (SEQ ID NO: 61), EV1018-N93Q-N95T-IgG2 (SEQ ID NO: 62), EV1018-IgG4 (SEQ ID NO: 63), EV1018-wt-IgG4 (SEQ ID NO: 64), EV1018-T97A-IgG4 (SEQ ID NO: 65), EV1018-T97V-IgG4 (SEQ ID NO: 66), EV1018-N95D-IgG4 (SEQ ID NO: 67), EV1018-N95E-IgG4 (SEQ ID NO: 68), EV1018-N95K-IgG4 (SEQ ID NO: 69), EV1018-N95Q-IgG4 (SEQ ID NO: 70), EV1018-N93Q-N95T-IgG4 (SEQ ID NO: 71), EV1018-IgG4-SP (SEQ ID NO: 72), EV1018-wt-IgG4-SP (SEQ ID NO: 73), EV1018-T97A-IgG4-SP (SEQ ID NO: 74), EV1018-T97V-IgG4-SP (SEQ ID NO: 75), EV1018-N95D-IgG4-SP (SEQ ID NO: 76), EV1018-N95E-IgG4-SP (SEQ ID NO: 77), EV1018-N95K-IgG4-SP (SEQ ID NO: 78), EV1018-N95Q-IgG4-SP (SEQ ID NO: 79) y EV1018-N93Q-N95T-IgG4-SP (SEQ ID NO: 80).

Un aspecto de referencia proporciona numerosos anticuerpos EV1019 en sí y variaciones del anticuerpo EV1019 tal como se resume en la Tabla B. En ciertas formas de realización, una cadena pesada contiene una o varias sustituciones de aminoácidos respecto de la secuencia de cadena pesada de tipo salvaje. En algunos aspectos, una cadena liviana contiene una o varias sustituciones de aminoácidos respecto de la secuencia de cadena liviana EV1019 de tipo salvaje. En algunos aspectos, una cadena pesada y una cadena liviana contienen, cada una de ellas, una o varias sustituciones de aminoácidos.

En algunos aspectos, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende la cadena pesada, EV1019 (SEQ ID NO: 160) y una cadena liviana seleccionado del grupo que consiste en: EV1019-wt-original (SEQ ID NO: 202), EV1019-wt-BI (SEQ ID NO: 203), EV1019-wt-BI2 (SEQ ID NO: 204), EV1019-wt original constante (SEQ ID NO: 205), EV1019-N25S (SEQ ID NO: 206), EV1019-N25S-BI2 (SEQ ID NO: 207), EV1019-N25G (SEQ ID NO: 208), EV1019-N25G-BI2 (SEQ ID NO: 209), EV1019-N25T (SEQ ID NO: 210), EV1019-N25T-BI2 (SEQ ID NO: 211), EV1019-N25R (SEQ ID NO: 212), EV1019-N25R-BI2 (SEQ ID NO: 213), EV1019-N25Q (SEQ ID NO: 214), EV1019-N25Q-BI2 (SEQ ID NO: 215), EV1019-S27N (SEQ ID NO: 216), EV1019-S27N-BI2 (SEQ ID NO: 217), EV1019-S27G (SEQ ID NO: 218), EV1019-S27G-BI2 (SEQ ID NO: 219), EV1019-S27A (SEQ ID NO: 220) y EV1019-S27A-BI2 (SEQ ID NO: 221).

En algunos aspectos, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende la cadena pesada, EV1019-wt-IgG1-BI (SEQ ID NO: 161) y una cadena liviana seleccionado del grupo que consiste en: EV1019-wt-original (SEQ ID NO: 202), EV1019-wt-BI (SEQ ID NO: 203), EV1019-wt-BI2 (SEQ ID NO: 204), EV1019-wt original constante (SEQ ID NO: 205), EV1019-N25S (SEQ ID NO: 206), EV1019-N25S-BI2 (SEQ ID NO: 207), EV1019-N25G (SEQ ID NO: 208), EV1019-N25G-BI2 (SEQ ID NO: 209), EV1019-N25T (SEQ ID NO: 210), EV1019-N25T-BI2 (SEQ ID NO: 211), EV1019-N25R (SEQ ID NO: 212), EV1019-N25R-BI2 (SEQ ID NO: 213), EV1019-N25Q (SEQ ID NO: 214), EV1019-N25Q-BI2 (SEQ ID NO: 215), EV1019-S27N (SEQ ID NO: 216), EV1019-S27N-BI2 (SEQ ID NO: 217), EV1019-S27G (SEQ ID NO: 218), EV1019-S27G-BI2 (SEQ ID NO: 219), EV1019-S27A (SEQ ID NO: 220) y EV1019-S27A-BI2 (SEQ ID NO: 221).

En algunos aspectos, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende la cadena pesada, EV1019-wt-IgG1-KO (SEQ ID NO: 162) y una cadena liviana seleccionado del grupo que consiste en: EV1019-wt-original (SEQ ID NO: 202), EV1019-wt-BI (SEQ ID NO: 203), EV1019-wt-BI2 (SEQ ID NO: 204), EV1019-wt original constante (SEQ ID NO: 205), EV1019-N25S (SEQ ID NO: 206), EV1019-N25S-BI2 (SEQ ID NO: 207), EV1019-N25G (SEQ ID NO: 208), EV1019-N25G-BI2 (SEQ ID NO: 209), EV1019-N25T (SEQ ID NO: 210), EV1019-N25T-BI2 (SEQ ID NO: 211), EV1019-N25R (SEQ ID NO: 212), EV1019-N25R-BI2 (SEQ ID NO: 213), EV1019-N25Q (SEQ ID NO: 214), EV1019-N25Q-BI2 (SEQ ID NO: 215), EV1019-S27N (SEQ ID NO: 216), EV1019-S27N-BI2 (SEQ ID NO: 217), EV1019-S27G (SEQ ID NO: 218), EV1019-S27G-BI2 (SEQ ID NO: 219), EV1019-S27A (SEQ ID NO: 220) y EV1019-S27A-BI2 (SEQ ID NO: 221).

En algunos aspectos, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende la cadena pesada, EV1019-C105G (SEQ ID NO: 163) y una cadena liviana seleccionado del grupo que consiste en: EV1019-wt-original (SEQ ID NO: 202), EV1019-wt-BI (SEQ ID NO: 203), EV1019-wt-BI2 (SEQ ID NO: 204), EV1019-wt original constante (SEQ ID NO: 205), EV1019-N25S (SEQ ID NO: 206), EV1019-N25S-BI2 (SEQ ID NO: 207), EV1019-N25G (SEQ ID NO: 208), EV1019-N25G-BI2 (SEQ ID NO: 209), EV1019-N25T (SEQ ID NO: 210), EV1019-N25T-BI2 (SEQ ID NO: 211), EV1019-N25R (SEQ ID NO: 212), EV1019-N25R-BI2 (SEQ ID NO: 213), EV1019-N25Q (SEQ ID NO: 214), EV1019-N25Q-BI2 (SEQ ID NO: 215), EV1019-S27N (SEQ ID NO: 216), EV1019-S27N-BI2 (SEQ ID NO: 217), EV1019-S27G (SEQ ID NO: 218), EV1019-S27G-BI2 (SEQ ID NO: 219), EV1019-S27A (SEQ ID NO: 220) y EV1019-S27A-BI2 (SEQ ID NO: 221).

En algunos aspectos, el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende la cadena pesada, EV1019-C105G-IgG1-BI (SEQ ID NO: 164) y una cadena liviana seleccionado del grupo que consiste en: EV1019-wt-original (SEQ ID NO: 202), EV1019-wt-BI (SEQ ID NO: 203), EV1019-wt-BI2 (SEQ ID NO: 204), EV1019-wt original constante (SEQ ID

5 NO: 202), EV1019-wt-BI (SEQ ID NO: 203), EV1019-wt-BI2 (SEQ ID NO: 204), EV1019-wt original constante (SEQ ID NO: 205), EV1019-N25S (SEQ ID NO: 206), EV1019-N25S-BI2 (SEQ ID NO: 207), EV1019-N25G (SEQ ID NO: 208), EV1019-N25G-BI2 (SEQ ID NO: 209), EV1019-N25T (SEQ ID NO: 210), EV1019-N25T-BI2 (SEQ ID NO: 211), EV1019-N25R (SEQ ID NO: 212), EV1019-N25R-BI2 (SEQ ID NO: 213), EV1019-N25Q (SEQ ID NO: 214), EV1019-N25Q-BI2 (SEQ ID NO: 215), EV1019-S27N (SEQ ID NO: 216), EV1019-S27N-BI2 (SEQ ID NO: 217), EV1019-S27G (SEQ ID NO: 218), EV1019-S27G-BI2 (SEQ ID NO: 219), EV1019-S27A (SEQ ID NO: 220) y EV1019-S27A-BI2 (SEQ ID NO: 221).

10 Además, una región variable de una cadena pesada y una región variable de una cadena liviana se pueden combinar para dar un fragmento Fab que se une con un antígeno. Esta combinación que retiene la misma afinidad de unión a antígeno o una equivalente es de utilidad para producir diversas versiones de fragmento de unión a antígeno, como un fragmento variable monocatenario (scFv). Un scfv es una fusión de las regiones variables de las cadenas pesadas y livianas de inunoglobulinas, ligadas entre sí con un ligador corto (usualmente serina, glicina) y se conoce bien en el arte.

15 Conforme a ello, una región variable de cadena pesada EV 1018 se puede combinar con una región variable de cadena liviana EV1018. En algunas formas de realización, la región variable de la cadena pesada y/o la cadena liviana puede ser una variante que contiene una o varias alteraciones de aminoácidos en comparación con la secuencia de tipo salvaje de la cadena.

En algunas formas de realización, la región variable de la cadena pesada y/o la cadena liviana puede ser una variante que contiene una o varias alteraciones de aminoácidos en comparación con la secuencia de tipo salvaje de la cadena.

20 En algunas formas de realización, cualquiera de las siguientes 1018 regiones variables de cadena pesada (por ejemplo, tipo salvaje y sus variantes) se puede combinar con la región de cadena liviana variable EV1018-V_L-wt-original (SEQ ID NO: 364) para formar un fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF: EV1018-V_H (SEQ ID NO: 348), EV1018-V_H-wt (SEQ ID NO: 349), EV1018-V_H-T97A (SEQ ID NO: 350), EV1018-V_H-T97V (SEQ ID NO: 351), EV1018-V_H-N95D (SEQ ID NO: 352), EV1018-V_H-N95E (SEQ ID NO: 353), EV1018-V_H-N95K (SEQ ID NO: 334), EV1018-V_H-N95Q (SEQ ID NO: 355), EV1018-V_H-N93Q-N95T (SEQ ID NO: 356), EV1018-V_H-T97A IgG1 original constante (SEQ ID NO: 357), EV1018-V_H-T97V IgG1 original constante (SEQ ID NO: 358), EV1018-V_H-N95D IgG1 original constante (SEQ ID NO: 359), EV1018-V_H-N95E IgG1 original constante (SEQ ID NO: 360), EV1018-V_H-N95K IgG 1 original constante (SEQ ID NO: 361), EV1018-V_H-N95Q IgG1 original constante (SEQ ID NO: 362) y EV1018-V_H-N93Q-N95T IgG1 original constante (SEQ ID NO: 363).

30 En algunas formas de realización, cualquiera de las siguientes 1018 regiones variables de cadena pesada (por ejemplo, tipo salvaje y sus variantes) se puede combinar con la región de cadena liviana variable, EV1018-V_L-wt-BI (SEQ ID NO: 365) para formar un fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF: EV1018-V_H (SEQ ID NO: 348), EV1018-V_H-wt (SEQ ID NO: 349), EV1018-V_H-T97A (SEQ ID NO: 350), EV1018-V_H-T97V (SEQ ID NO: 351), EV1018-V_H-N95D (SEQ ID NO: 352), EV1018-V_H-N95E (SEQ ID NO: 353), EV1018-V_H-N95K (SEQ ID NO: 354), EV1018-V_H-N95Q (SEQ ID NO: 355), EV1018-V_H-N93Q-N95T (SEQ ID NO: 356), EV1018-V_H-T97A IgG1 original constante (SEQ ID NO: 357), EV1018-V_H-T97V IgG1 original constante (SEQ ID NO: 358), EV1018-V_H-N95D IgG1 original constante (SEQ ID NO: 359), EV1018-V_H-N95E IgG1 original constante (SEQ ID NO: 360), EV1018-V_H-N95K IgG1 original constante (SEQ ID NO: 361), EV1018-V_H-N95Q IgG1 original constante (SEQ ID NO: 362) y EV1018-V_H-N93Q-N95T IgG1 original constante (SEQ ID NO: 363).

35 Del mismo modo, en algunos aspectos, un fragmento de unión a antígeno de EV1019 comprende la región de cadena pesada variable, EV1019-V_H-wt (SEQ ID NO: 152) y una región de cadena liviana variable seleccionado del grupo que consiste en: EV1019-V_L-wt (SEQ ID NO: 184), EV1019-V_L-BI (SEQ ID NO: 185), EV1019-V_L-N25S (SEQ ID NO: 186), EV1019-V_L-BI-N25S (SEQ ID NO: 187), EV1019-V_L-N25G (SEQ ID NO: 188), EV1019-V_L-BI-N25G (SEQ ID NO: 189), EV1019-V_L-N25T (SEQ ID NO: 190), EV1019-V_L-BI-N25T (SEQ ID NO: 191), EV1019-V_L-N25R (SEQ ID NO: 192), EV1019-V_L-BI-N25R (SEQ ID NO: 193), EV1019-V_L-N25Q (SEQ ID NO: 194), EV1019-V_L-BI-N25Q (SEQ ID NO: 195), EV1019-V_L-S27N (SEQ ID NO: 196), EV1019-V_L-BI-S27N (SEQ ID NO: 197), EV1019-V_L-S27G (SEQ ID NO: 198), EV1019-V_L-BI-S27G (SEQ ID NO: 199), EV1019-V_L-S27A (SEQ ID NO: 200), EV1019-BI-BI-S27A (SEQ ID NO: 201).

40 En algunos aspectos, un fragmento de unión a antígeno de EV 1019 comprende la región de cadena pesada variable, EV1019-V_H-C105G (SEQ ID NO: 133) y una región de cadena liviana variable seleccionado del grupo que consiste en: EV1019-V_L-wt (SEQ ID NO: 184), EV1019-V_L-BI (SEQ ID NO: 185), EV1019-V_L-N25S (SEQ ID NO: 186), EV1019-V_L-BI-N25S (SEQ ID NO: 187), EV1019-V_L-N25G (SEQ ID NO: 188), EV1019-V_L-BI-N25G (SEQ ID NO: 189), EV1019-V_L-N25T (SEQ ID NO: 190), EV1019-V_L-BI-N25T (SEQ ID NO: 191), EV1019-V_L-N25R (SEQ ID NO: 192), EV1019-V_L-BI-N25R (SEQ ID NO: 193), EV1019-V_L-N25Q (SEQ ID NO: 194), EV1019-V_L-BI-N25Q (SEQ ID NO: 195), EV1019-V_L-S27N (SEQ ID NO: 196), EV1019-V_L-BI-S27N (SEQ ID NO: 197), EV1019-V_L-S27G (SEQ ID NO: 198), EV1019-V_L-BI-S27G (SEQ ID NO: 199), EV1019-V_L-S27A (SEQ ID NO: 200), EV1019-BI-BI-S27A (SEQ ID NO: 201).

45 En algunos aspectos, un fragmento de unión a antígeno de EV1019 comprende la región de cadena pesada variable, EV1019-V_H-C105S (SEQ ID NO: 154) y una región de cadena liviana variable seleccionado del grupo que consiste en: EV1019-V_L-wt (SEQ ID NO: 184), EV1019-V_L-BI (SEQ ID NO: 185), EV1019-V_L-N25S (SEQ ID NO: 186), EV1019-V_L-BI-N25S (SEQ ID NO: 187), EV1019-V_L-N25G (SEQ ID NO: 188), EV1019-V_L-BI-N25G (SEQ ID NO: 189), EV1019-V_L-

N25T (SEQ ID NO: 190), EV1019-V_L-BI-N25T (SEQ ID NO: 191), EV1019-V_L-N25R (SEQ ID NO: 192), EV1019-V_L-BI-N35R (SEQ ID NO: 193), EV1019-V_L-N25Q (SEQ ID NO: 194), EV1019-V_L-BI-N25Q (SEQ ID NO: 195), EV1019-V_L-S27N (SEQ ID NO: 196), EV1019-V_L-BI-S27N (SEQ ID NO: 197), EV1019-V_L-S27G (SEQ ID NO: 198), EV1019-V_L-BI-S27G (SEQ ID NO: 199), EV1019-V_L-S27A (SEQ ID NO: 200), EV1019-V_L-BI-S27A (SEQ ID NO: 201).

5 En algunos aspectos, un fragmento de unión a antígeno de EV 1019 comprende la región de cadena pesada variable, EV 1019-V_H-C105A (SEQ ID NO: 155) y una región de cadena liviana variable seleccionado del grupo que consiste en: EV1019-V_L-wt (SEQ ID NO: 184), EV1019-V_L-BI (SEQ ID NO: 185), EV1019-V_L-N25S (SEQ ID NO: 186), EV1019-V_L-BI- N25S (SEQ ID NO: 187), EV1019-V_L-N25G (SEQ ID NO: 188), EV1019-V_L-BI-N25G (SEQ ID NO: 189), EV1019-V_L- N25T (SEQ ID NO: 190), EV1019-V_L-BI-N25T (SEQ ID NO: 191), EV1019-V_L-N25R (SEQ ID NO: 192), EV1019-V_L-BI- N25R (SEQ ID NO: 193), EV1019-V_L-N25Q (SEQ ID NO: 194), EV1019-V_L-BI-N25Q (SEQ ID NO: 195), EV1019-V_L- S27N (SEQ ID NO: 196), EV1019-V_L-BI-S27N (SEQ ID NO: 197), EV1019-V_L-S27G (SEQ ID NO: 198), EV1019-V_L-BI- S27G (SEQ ID NO: 199), EV1019-V_L-S27A (SEQ ID NO: 200), EV1019-V_L-BI-S27A (SEQ ID NO: 201).

15 En algunos aspectos, un fragmento de unión a antígeno de EV1019 comprende la región de cadena pesada variable, EV1019-V_H-C105T (SEQ ID NO: 156) y una región de cadena liviana variable seleccionado del grupo que consiste en: EV1019-V_L-wt (SEQ ID NO: 184), EV1019-V_L-BI (SEQ ID NO: 185), EV1019-V_L-N25S (SEQ ID NO: 186), EV1019-V_L-BI-
N25S (SEQ ID NO: 187), EV1019-V_L-N25G (SEQ ID NO: 188), EV1019-V_L-BI-N25G (SEQ ID NO: 189), EV1019-V_L-
N25T (SEQ ID NO: 190), EV1019-V_L-BI-N25T (SEQ ID NO: 191), EV1019-V_L-N25R (SEQ ID NO: 192), EV1019-V_L-BI-
N25R (SEQ ID NO: 193), EV1019-V_L-N25Q (SEQ ID NO: 194), EV1019-V_L-BI-N25Q (SEQ ID NO: 195), EV1019-V_L-
S27N (SEQ ID NO: 196), EV1019-V_L-BI-S27N (SEQ ID NO: 197), EV1019-V_L-S27G (SEQ ID NO: 198), EV1019-V_L-BI-
S27G (SEQ ID NO: 199), EV1019-V_L-S27A (SEQ ID NO: 200), EV1019-V_L-BI-S27A (SEQ ID NO: 201).
20

En algunos aspectos, un fragmento de unión a antígeno de EV1019 comprende la región de cadena pesada variable, EV1019-V_H-C105M (SEQ ID NO: 167) y una región de cadena liviana variable seleccionado del grupo que consiste en: EV1019-V_L-wt (SEQ ID NO: 184), EV1019-V_L-BI (SEQ ID NO: 185), EV1019-V_L-N25S (SEQ ID NO: 186), EV1019-V_L-BI-N25S (SEQ ID NO: 187), EV1019-V_L-N25G (SEQ ID NO: 188), EV1019-V_L-BI-N25G (SEQ ID NO: 189), EV1019-V_L-N25T (SEQ ID NO: 190), EV1019-V_L-BI-N25T (SEQ ID NO: 191), EV1019-V_L-N25R (SEQ ID NO: 192), EV1019-V_L-BI-N25R (SEQ ID NO: 193), EV1019-V_L-N25Q (SEQ ID NO: 194), EV1019-V_L-BI-N25Q (SEQ ID NO: 195), EV1019-V_L-S27N (SEQ ID NO: 196); EV1019-V_L-BI-S27N (SEQ ID NO: 197), EV1019-V_L-S27G (SEQ ID NO: 198), EV1019-V_L-BI-S27G (SEQ ID NO: 199), EV1019-V_L-S27A (SEQ ID NO: 200), EV1019-V_L-BI-S27A (SEQ ID NO: 201).

30 En algunos aspectos, un fragmento de unión a antígeno de EV1019 comprende la región de cadena pesada variable, EV1019-V_H-C105Q (SEQ ID NO: 158) y una región de cadena liviana variable seleccionado del grupo que consiste en: EV1019-V_L-wt (SEQ ID NO: 184), EV1019-V_L-BI (SEQ ID NO: 185), EV1019-V_L-N25S (SEQ ID NO: 186), EV1019-V_L-BI- N25S (SEQ ID NO: 187), EV1019-V_L-N25G (SEQ ID NO: 188), EV1019-V_L-BI-N25G (SEQ ID NO: 189), EV1019-V_L- N25T (SEQ ID NO: 190), EV1019-V_L-BI-N25T (SEQ ID NO: 191), EV1019-V_L-N25R (SEQ ID NO: 192), EV1019-V_L-BI- N25R (SEQ ID NO: 193), EV1019-V_L-N25Q (SEQ ID NO: 194), EV1019-V_L-BI-N25Q (SEQ ID NO: 195), EV1019-V_L- S27N (SEQ ID NO: 196), EV1019-V_L-BI-S27N (SEQ ID NO: 197), EV1019-V_L-S27G (SEQ ID NO: 198), EV1019-V_L-BI- S27G (SEQ ID NO: 199), EV1019-V_I-S27A (SEQ ID NO: 200), EV1019-V_I-BI-S27A (SEQ ID NO: 201).

40 En algunos aspectos, un fragmento de unión a antígeno de EV 1019 comprende la región de cadena pesada variable, EV1019-V_H-C105L (SEQ ID NO: 159) y una región de cadena liviana variable seleccionado del grupo que consiste en: EV1019-V_L-wt (SEQ ID NO: 184), EV1019-V_L-BI (SEQ ID NO: 185), EV1019-V_L-N25S (SEQ ID NO: 186), EV1019-V_L-BI- N25S (SEQ ID NO: 187), EV1019-V_L-N25G (SEQ ID NO: 188), EV1019-V_L-BI-N25G (SEQ ID NO: 189), EV1019-V_L- N25T (SEQ ID NO: 190), EV1019-V_L-BI-N25T (SEQ ID NO: 191), EV1019-V_L-N25R (SEQ ID NO: 192), EV1019-V_L-BI- N25R (SEQ ID NO: 193), EV 1019-V_L-N25Q (SEQ ID NO: 194), EV1019-V_L-BI-N25Q (SEQ ID NO: 195), EV1019-V_L- S27N (SEQ ID NO: 196), EV1019-V_L-BI-S27N(SEQ ID NO: 197), EV1019-V_L-S27G (SEQ ID NO: 198), EV1019-V_L-BI- S27G (SEQ ID NO: 199), EV1019-V_L-S27A (SEQ ID NO: 200), EV1019-V_L-BI-S27A (SEQ ID NO: 201).

45 *Variaciones dentro de la invención*

La presente invención incluye anticuerpos anti-hGM-CSF de longitud total o sus porciones de unión a antígeno o porciones de anti-hGM-CSF anticuerpos, cuando dos o más tipos de ellos se administran al mismo tiempo. En consecuencia, también se incluyen en la presente invención anticuerpo biespecífico y anticuerpo multiespecífico que reconocen hGM-CSF.

50 Las variaciones del anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su porción de unión a antígeno se explican en la descripción anterior, pero las características descritas pueden ser sustituidas o convertidas en el campo tecnológico sin apartarse del alcance de la invención.

A saber, en el alcance de la presente invención, se incluyen los siguientes anticuerpos o porciones de unión a antígeno:

(I) el anticuerpo de longitud total y su porción de unión a antígeno

55 (II) una porción del anticuerpo, y

(III) el anticuerpo monoclonal humano recombinante, anticuerpo monoclonal (que incluye anticuerpo químérico y anticuerpo humanizado) o su porción de unión a antígeno capaz de unirse específicamente a hGM-CSF y neutralizante de su bioactividad, en donde el anticuerpo monoclonal humano recombinante se obtiene por medio de cualquier técnica bien conocida, en base a secuencias de aminoácidos de SEQ ID NOs: 4-9, SEQ ID NO: 364 y 365 y SEQ ID NO: 348-363, que representa región variable y CDR.

5

Cuando un anticuerpo específico o su porción de unión a antígeno producido por el método anterior se aplica en base a al menos una secuencia de aminoácidos selección de cada grupo que consiste en SEQ ID NOs: 4-9, descritas en la presente, el anticuerpo o su porción de unión a antígeno también se incorpora en la presente invención.

Listado de las variantes de anticuerpo

10 Las Tablas proporcionadas más abajo suministran listados de cadenas de anticuerpos útiles y fragmentos para los anticuerpos EV1018 y EV1019, respectivamente.

Tabla A: Listado de variantes de cadena pesada y de cadena liviana y regiones variables para el anticuerpo EV1018

Variantes de cadena pesada EV1018	Variantes de cadena liviana EV1018		
EV1018	SEQ ID NO:10	EV1018-wt-original	SEQ ID NO:34
EV1018-wt-IgG1KO	SEQ ID NO:11	EV1018-wt-BI	SEQ ID NO:35
EV1018-T97A-IgG1KO	SEQ ID NO:12	EV1018-wt-BI2 (G1)	SEQ ID NO:36
EV1018-T97V-IgG1KO	SEQ ID NO:13	EV1018-wt original constante	SEQ ID NO:37
EV1018-N95D-IgG1KO	SEQ ID NO:14	EV1018-V _L -wt-original	SEQ ID NO:364
EV1018-N95E IgG1KO	SEQ ID NO:15	EV1018-V _L -wt-BI	SEQ ID NO:365
V1018-N95K IgG1KO	SEQ ID NO:16		
EV1018-N95Q IgG1KO	SEQ ID NO:17		
EV1018-N93Q-N95T IgG1KO	SEQ ID NO:18		
EV1018-wt IgG1-BI	SEQ ID NO:19		
EV1018-T97A IgG1-BI	SEQ ID NO:20		
EV1018-T97V IgG1-BI	SEQ ID NO:21		
EV1018-N95D IgG1-BI	SEQ ID NO:22		
EV1018-N95E IgG1-BI	SEQ ID NO:23		
EV1018-N95K IgG1-BI	SEQ ID NO:24		
EV1018-N95Q IgG1-BI	SEQ ID NO:25		
EV1018-N93Q-N95T IgG1-BI	SEQ ID NO:26		
EV1018-T97A IgG1 original constante	SEQ ID NO:27		

Variantes de cadena pesada EV1018	Variantes de cadena liviana EV1018
EV1018-T97V IgG1 original constante	SEQ ID NO:28
EV1018-N95D IgG1 original constante	SEQ ID NO:29
EV1018-N95E IgG1 original constante	SEQ ID NO:30
EV1018-N95K IgG1 original constante	SEQ ID NO:31
EV1018-N95Q IgG1 original constante	SEQ ID NO:32
EV1018-N93Q-N95T IgG1 original constante	SEQ ID NO:33
EV1018-wt-IgG1-KO-QVQL	SEQ ID NO:38
EV1018-T97A-IgG1-KO-QVQL	SEQ ID NO:39
EV1018-T97V-IgG1-KO-QVQL	SEQ ID NO:40
EV1018-N95D-IgG1-KO-QVQL	SEQ ID NO:41
EV1018-N95E IgG1-KO-QVQL EV1018-N95E IgG1-KO-QVQL	SEQ ID NO:42
EV1018-N95K IgG1-KO-QVQL	SEQ ID NO:43
EV1018-N95Q IgG1-KO-QVQL EV1018-N950 IgG1-KO-QVQL	SEQ ID NO:44
EV1018-N93Q-N95T IgG1-KO-QV _L	SEQ ID NO:45
EV1018-wt IgG1-QVQL-BI	SEQ ID NO:46
EV1018-T97A IgG1-QVQL-BI	SEQ ID NO:47
EV1018-T97V IgG1-QVQL-BI	SEQ ID NO:48
EV1018-N95D IgG1-QVQL-BI	SEQ ID NO:49
EV1018-N95E IgG1-QVQL-BI	SEQ ID NO:50
EV1018-N95K IgG1-QVQL-BI	SEQ ID NO:51
EV1018-N95Q IgG1-QVQL-BI	SEQ ID NO:52
EV1018-N93Q-N95T IgG1-QVQL-BI	SEQ ID NO:53
EV1018-IgG2	SEQ ID NO:54
EV1018-wt-IgG2	SEQ ID NO:55
EV1018-T97A-IgG2	SEQ ID NO:56

ES 2 401 536 T3

Variantes de cadena pesada EV1018		Variantes de cadena liviana EV1018	
EV1018-T97V-IgG2	SEQ ID NO:57		
EV1018-N95D-IgG2	SEQ ID NO:58		
EV1018-N95E-IgG2	SEQ ID NO:59		
EV1018-N95K-IgG2	SEQ ID NO:60		
EV1018-N95Q-IgG2	SEQ ID NO:61		
EV1018-N93Q-N95T-IgG2	SEQ ID NO:62		
EV1018-IGG4	SEQ ID NO:63		
EV1018-wt-IgG4	SEQ ID NO:64		
EV1018-T97A-IgG4	SEQ ID NO:65		
EV1018-T97V-IgG4	SEQ ID NO:66		
EV1 01 8-N95D-IgG4	SEQ ID NO:67		
EV1018-N95E-IgG4	SEQ ID NO:68		
EV1018-N95K-IgG4	SEQ ID NO:69		
EV1018-N95Q-IgG4	SEQ ID NO:70		
EV1018-N93Q-N95T-IgG4	SEQ ID NO:71		
EV1018-IgG4-SP	SEQ ID NO:72		
EV1018-wt-IgG4-SP	SEQ ID NO:73		
EV1018-T97A-IgG4-SP	SEQ ID NO:74		
EV1018-T97V-IgG4-SP	SEQ ID NO:75		
EV1018-N95D-IgG4-SP	SEQ ID NO:76		
EV1018-N95E-IgG4-SP	SEQ ID NO:77		
EV1018-N95K-IgG4-SP	SEQ ID NO:78		
EV1018-N95Q-IgG4-SP	SEQ ID NO:79		
EV1018-N93Q-N95T-IgG4-SP	SEQ ID NO:80		
EV1018	SEQ ID NO:81		
EV1018-wt-IgG1KO	SEQ ID NO:82		

Variantes de cadena pesada EV1018	Variantes de cadena liviana EV1018
EV1018-T97A-IdG1KO	SEQ ID NO:83
EV1018-T97V-IgG1KO	SEQ ID NO:84
EV1018-N95D-IgG1KO	SEQ ID NO:85
EV1018-N95E IgG1KO	SEQ ID NO:86
EV1018-N95K IgG1KO	SEQ ID NO:87
EV1018-N95Q IgG1KO	SEQ ID NO:88
EV1018-N93Q-N95T IgG1KO	SEQ ID NO:89
EV1018-wt IgG1-BI	SEQ ID NO:90
EV1018-T97A IgG1-BI	SEQ ID NO:91
EV1018-T97V IgG1-BI	SEQ ID NO:92
EV1018-N95D IgG1-BI	SEQ ID NO:93
EV1018-N95E IgG1-BI	SEQ ID NO:94
EV1018-N95K IgG1-BI	SEQ ID NO:95
EV1018-N95Q IgG1-BI	SEQ ID NO:96
EV1018-N93Q-N95T IgG1-BI	SEQ ID NO:97
EV1018-T97A IgG1 original constante	SEQ ID NO:98
EV1018-T97V IgG1 original constante	SEQ ID NO:99
EV1018-N95D IgG1 original constante	SEQ ID NO:100
EV1018-N95E IgG1 original constante	SEQ ID NO:101
EV1018-N95K IgG1 original constante	SEQ ID NO:102
EV1018-N95Q IgG1 original constante	SEQ ID NO:103
EV1018-N93Q-N95T IgG1 original constante	SEQ ID NO:104
EV1018-wt-IgG1-KO-QVQL	SEQ ID NO:109
EV1018-T97A-IgG1-KO-QVQL	SEQ ID

ES 2 401 536 T3

Variantes de cadena pesada EV1018		Variantes de cadena liviana EV1018	
	NO:110		
EV1018- T97V-IgG1-KO-QVQL	SEQ NO:111	ID	
EV1018-N95D-IgG1-KO-QVQL	SEQ NO:112	ID	
EV1018-N95E IgG1-KO-QVQL	SEQ NO:113	ID	
EV1018-N95K IgG1-KO-QVQL	SEQ NO:114	ID	
EV1018-N95Q IgG1-KO-QVQL	SEQ NO:115	ID	
EV1018-N93Q-N95T IgG1-KO-QVQL	SEQ NO:116	ID	
EV1018-wt IgG1-QVQL-BI	SEQ NO:117	ID	
EV1018-T97A IgG1-QVQL-BI	SEQ NO:118	ID	
EV1018-T97V IgG1-QVQL-BI	SEQ NO:119	ID	
EV1018-N95D IgG1-QVQL-BI	SEQ NO:120	ID	
EV1018-N95E IgG1-QVQL-BI	SEQ NO:121	ID	
EV1018-N95K IgG1-QVQL-BI	SEQ NO:122	ID	
EV1018-N95Q IgG1-QVQL-BI	SEQ NO:123	ID	
EV1018-N93Q-N95T IgG1-QVQL-BI	SEQ NO:124	ID	
EV1018-IgG2	SEQ NO:125	ID	
EV1018-wt-IgG2	SEQ NO:126	ID	
EV1018-T97A-IgG2	SEQ NO:127	ID	
EV1018-T97V-IgG2	SEQ	ID	

ES 2 401 536 T3

Variantes de cadena pesada EV1018		Variantes de cadena liviana EV1018	
	NO:128		
EV1018-N95D-IgG2	SEQ NO:129	ID	
EV1018-N95E-IgG2	SEQ NO:130	ID	
EV1018-N95K-IgG2	SEQ NO:131	ID	
EV1018-N95Q-IgG2	SEQ NO:132	ID	
EV1018-N93Q-N95T-IgG2	SEQ NO:133	ID	
EV1018-IgG4	SEQ NO:134	ID	
EV1018-wt-IgG4	SEQ NO:135	ID	
EV1018-T97A-IgG4	SEQ NO:136	ID	
EV1018-T97V-IgG4	SEQ NO:137	ID	
EV1018-N95D-IgG4	SEQ NO:138	ID	
EV1018-N95E-IgG4	SEQ NO:139	ID	
EV1018-N95K-IgG4	SEQ NO:140	ID	
EV1018-N95Q-IgG4	SEQ NO:141	ID	
EV1018-N93Q-N95T-IgG4	SEQ NO:142	ID	
EV1018-IgG4-SP	SEQ NO:143	ID	
EV1018-wt-IgG4-SP	SEQ NO:144	ID	
EV1018-T97A-IgG4-SP	SEQ NO:145	ID	
EV1018-T97V-IgG4-SP	SEQ	ID	

Variantes de cadena pesada EV1018		Variantes de cadena liviana EV1018	
	NO:146		
EV1018-N95D-IgG4-SP	SEQ NO:147	ID	
EV1018-N95E-IgG4-SP	SEQ NO:148	ID	
EV1018-N95K-IgG4-SP	SEQ NO:149	ID	
EV1018-N95Q-IgG4-SP	SEQ NO:150	ID	
EV1018-N93Q-N95T-IgG4-S	SEQ NO:151	ID	
EV1018-V _H	SEQ NO:348	ID	
EV1018-V _H -wt	SEQ NO:349	ID	
EV1018-V _H -T97A	SEQ NO:350	ID	
EV1018-V _H -T97V	SEQ NO:351	ID	
EV1018-V _H -N95D	SEQ NO:352	ID	
EV1018-V _H -N95E	SEQ NO:353	ID	
EV1018-V _H -N95K	SEQ NO:354	ID	
EV1018-V _H -N95Q	SEQ NO:355	ID	
EV1018-V _H -N93Q-N95T	SEQ NO:356	ID	
EV1018-V _H -T97A IgG1 original constante	SEQ NO:357	ID	
EV1018-V _H -T97V IgG1 original constante	SEQ NO:358	ID	
EV1018-V _H -N95D IgG1 original constante	SEQ NO:359	ID	
EV1018-V _H -N95E IgG1 original constante	SEQ	ID	

ES 2 401 536 T3

Variantes de cadena pesada EV1018		Variantes de cadena liviana EV1018	
	NO:360		
EV1018-V _H -N95K IgG1 original constante	SEQ ID NO:361		
EV1018-V _H -N95Q IgG1 original constante	SEQ ID NO:362		
EV1018-V _H -N93Q-N95T IgG1 original constante	SEQ ID NO:363		

Tabla B: Listado de variantes de cadena pesada y de cadena liviana y regiones variables para el anticuerpo EV1019

Variantes de cadena pesada EV1019		Variantes de cadena liviana EV1019	
EV1019-V _H -wt	SEQ ID NO:152	EV1019-V _L -wt	SEQ ID NO:184
EV1019-V _H -C105G	SEQ ID NO:153	EV1019-V _L -BI	SEQ ID NO:185
EV1019-V _H -C105S	SEQ ID NO:154	EV1019-V _L -N25S	SEQ ID NO:186
EV1019-V _H -C105A	SEQ ID NO:155	EV1019-V _L -BI-N25S	SEQ ID NO:187
EV1019-V _H -C105T	SEQ ID NO:156	EV1019-V _L -N25G	SEQ ID NO:188
EV1019-V _H -C105M	SEQ ID NO:157	EV1019-V _L -BI-N25G	SEQ ID NO:189
EV1019-V _H -C105Q	SEQ ID NO:158	EV1019-V _L -N25T	SEQ ID NO:190
EV1019-V _H -C105L	SEQ ID NO:159	EV1019-V _L -BI-N25T	SEQ ID NO:191
EV1019	SEQ ID NO:160	EV1019-V _L -N25R	SEQ ID NO:192
EV1019-wt-IgG1-BI	SEQ ID NO:161	(EV1019-V _L -BI-N25R	SEQ ID NO:193
EV1019-wt-IgG1KO	SEQ ID NO:162	EV1019-V _L -N25Q	SEQ ID NO:194
EV1019-C105G	SEQ ID NO:163	EV1019-V _L -BI-N25Q	SEQ ID NO:195
EV1019-C105G-IgG1-BI	SEQ ID NO:164	EV1019-V _L -S27N	SEQ ID NO:196
EV1019-C105G-IgG1KO	SEQ ID NO:165	EV1019-V _L -BI-S27N	SEQ ID NO:197
EV1019-C105S	SEQ ID NO:166	EV1019-V _L -S27G	SEQ ID NO:198
EV1019-C105S-IgG1-BI	SEQ ID NO:167	EV1019-V _L -BI-S27G	SEQ ID NO:199
EV1019-C105S-IgG1KO	SEQ ID NO:168	EV1019-V _L -S27A	SEQ ID NO:200
EV1019-C105A	SEQ ID NO:169	EV1019-V _L -BI-S27A	SEQ ID NO:201

ES 2 401 536 T3

Variantes de cadena pesada EV1019		Variantes de cadena liviana EV1019	
EV1019-C105A-IgG1-BI	SEQ ID NO:170	EV1019-wt-original	SEQ ID NO:202
EV1019-C105A-IgG1KO	SEQ ID NO:171	EV1019-wt-BI	SEQ ID NO:203
EV1019-C105Q	SEQ ID NO:172	EV1019-wt-BI2	SEQ ID NO:204
EV1019-C105Q-IgG1-BI	SEQ ID NO:173	EV1019-wt original constante	SEQ ID NO:205
EV1019-C105Q-IG1KO	SEQ ID NO:174	EV1019-N25S	SEQ ID NO:206
EV1019-C105T	SEQ ID NO:175	EV1019-N25S-BI2	SEQ ID NO:207
EV1019-C105T-IgG1-BI	SEQ ID NO:176	EV1019-N25G	SEQ ID NO:208
EV1019-C105T-IgG1KO	SEQ ID NO:177	EV1019-N25G-BI2	SEQ ID NO:209
EV1019-C105M	SEQ ID NO:178	EV1019-N25T	SEQ ID NO:210
EV1019-C105M-IgG1-BI	SEQ ID NO:179	EV1019-N25T-BI2	SEQ ID NO:211
EV1019-C105M-IG1KO	SEQ ID NO:180	EV1019-N25R	SEQ ID NO:212
EV1019-C105L	SEQ ID NO:181	EV1019-N25R-BI2	SEQ ID NO:213
EV1019-C105L-IgG1-BI	SEQ ID NO:182	EV1019-N25Q	SEQ ID NO:214
EV1019-C105L-IgG1KO	SEQ ID NO:183	EV1019-N25Q-BI2	SEQ ID NO:215
EV1019-IgG2	SEQ ID NO:222	EV1019-S27N	SEQ ID NO:216
EV1019-wt-IgG4	SEQ ID NO:223	EV1019-S27N-BI2	SEQ ID NO:217
EV1019-wt-IgG4SP	SEQ ID NO:224	EV1019-S27G	SEQ ID NO:218
EV1019-C105G-IgG2	SEQ ID NO:225	EV1019-S27G-BI2	SEQ ID NO:219
EV1019-C105G-IgG4	SEQ ID NO:226	EV1019-S27A	SEQ ID NO:220
EV1019-C105G-IgG4SP	SEQ ID NO:227	EV1019-S27A-BI2	SEQ ID NO:221
EV1019-C105S-IgG2	SEQ ID NO:228	EV1019-wt-original	SEQ ID NO:270
EV1019-C105S-IgG4	SEQ ID NO:229	EV1019-wt-BI	SEQ ID NO:271
EV1019-C105S-IgG4SP	SEQ ID NO:230	EV1019-wt-BI2	SEQ ID NO:272
EV1019-C105A-IgG2	SEQ ID NO:231	EV1019-wt original constante	SEQ ID NO:273
EV1019-C105A-IgG4	SEQ ID NO:232	EV1019-N25S	SEQ ID NO:274
EV1019-C105A-IgG4SP	SEQ ID NO:233	EV1019-N25S-BI2	SEQ ID NO:275

Variantes de cadena pesada EV1019		Variantes de cadena liviana EV1019	
EV1019-C105Q-IgG2	SEQ ID NO:234	EV1019-N25G	SEQ ID NO:276
EV1019-C105Q-IgG4	SEQ ID NO:235	EV1019-N25G-BI2	SEQ ID NO:277
EV1019-C105Q-IgG4SP	SEQ ID NO:236	EV1019-N25T	SEQ ID NO:278
EV1019-C105T-IgG2	SEQ ID NO:237	EV1019-N25T-BI2	SEQ ID NO:279
EV1019-C105T-IgG4	SEQ ID NO:238	EV1019-N25R	SEQ ID NO:280
EV1019-C105T-IgG4SP	SEQ ID NO:239	EV1019-N25R-BI2	SEQ ID NO:281
EV1019-C105M-IgG2	SEQ ID NO:240	EV1019-N25Q	SEQ ID NO:282
EV1019-C105M-IgG4	SEQ ID NO:241	EV1019-N25Q-BI2	SEQ ID NO:283
EV1019-C105M-IgG4SP	SEQ ID NO:242	EV1019-S27N	SEQ ID NO:284
EV1019-C105L-IgG2	SEQ ID NO:243	EV1019-S27N-BI2	SEQ ID NO:285
EV1019-C105L-IgG4	SEQ ID NO:244	EV1019-S27G	SEQ ID NO:286
EV1019-C105L-IgG4SP	SEQ ID NO:245	EV1019-S27G-BI2	SEQ ID NO:287
EV1019	SEQ ID NO:246	EV1019-S27A	SEQ ID NO:288
EV1019-wt-IgG1-BI	SEQ ID NO:247	EV1019-S27A-BI2	SEQ ID NO:289
EV1019-wt-IgG1KO	SEQ ID NO:248		
EV1019-C105G	SEQ ID NO:249		
EV1019-C105G-IgG1-BI	SEQ ID NO:250		
EV1019-C105G-IgG1KO	SEQ ID NO:251		
EV1019-C105S	SEQ ID NO:252		
EV1019-C105S-IgG1-BI	SEQ ID NO:253		
EV1019-C105S-IgG1KO	SEQ ID NO:254		
EV1019-C105A	SEQ ID NO:255		
EV1019-C105A-IgG1-BI	SEQ ID NO:256		
EV1019-C105A-IgG1KO	SEQ ID NO:257		
EV1019-C105Q	SEQ ID NO:258		
EV1019-C105Q-IgG1-BI	SEQ ID NO:259		

Variantes de cadena pesada EV1019		Variantes de cadena liviana EV1019	
EV1019-C105Q-IgG1KO	SEQ ID NO:260		
EV1019-C105T	SEQ ID NO:261		
EV1019-C105T-IgG1-BI	SEQ ID NO:262		
EV1019-C105T-IgG1KO	SEQ ID NO:263		
EV1019-C105M	SEQ ID NO:264		
EV1019-C105M-IgG1-BI	SEQ ID NO:265		
EV1019-C105M-IgG1KO	SEQ ID NO:266		
EV1019-C105L	SEQ ID NO:267		
EV1019-C15L-IgG1-BI	SEQ ID NO:278		
EV1019-C105L-IgG1KO	SEQ ID NO:269		
EV1019-IgG2	SEQ ID NO:290		
EV1019-wt-IgG4	SEQ ID NO:291		
EV1019-wt-IgG4SP	SEQ ID NO:292		
EV1019-C105G-IgG2	SEQ ID NO:293		
EV1019-C105G-IgG4	SEQ ID NO:294		
EV1019-C105G-IgG4SP	SEQ ID NO:295		
EV1019-C105S-IgG2	SEQ ID NO:296		
EV1019-C105S-IgG4	SEQ ID NO:297		
EV1019-C105S-IgG4SP	SEQ ID NO:298		
EV1019-C105A-IgG2	SEQ ID NO:299		
EV1019-C105A-IgG4	SEQ ID NO:300		
EV1019-C105A-IgG4SP	SEQ ID NO:301		
EV1019-C105Q-IgG2	SEQ ID NO:302		
EV1019-C1050-IgG4	SEQ ID NO:303		
EV1019-C105Q-IgG4SP	SEQ ID NO:304		
EV1019-C105T-IgG2	SEQ ID NO:305		

Variantes de cadena pesada EV1019		Variantes de cadena liviana EV1019	
EV1019-C105T-IgG4	SEQ ID NO:306		
EV1019-C105T-IgG4SP	SEQ ID NO:307		
EV1019-C105M-IgG2	SEQ ID NO:308		
EV1019-C105M-IgG4	SEQ ID NO:309		
EV1019-C105M-IgG4SP	SEQ ID NO:310		
EV1019-C105L-IgG2	SEQ ID NO:311		
EV1019-C105L-IgG4	SEQ ID NO:312		
EV1019-C105L-IgG4SP	SEQ ID NO:313		

Diversas formas de realización de la presente invención

Las siguientes formas de realización de la invención se describen con mayor detalle. La descripción de las formas de realización se organiza de una manera conocida de la redacción de las reivindicaciones de patente porque parece ser de utilidad para ejemplificar las enseñanzas de las que se puede derivar el alcance de protección conferido por esta solio de patente.

5 Un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, donde dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende:

10 (a) una cadena pesada que comprende una secuencia que contiene V_H -CDR1, una secuencia que contiene V_H -CDR2 y una secuencia que contiene V_H -CDR3, en donde:

(i) la secuencia que contiene V_H -CDR1 es SYGMH (SEQ ID NO: 4),

(ii) la secuencia que contiene V_H -CDR2 es LTYHHGNRKFYADSVRG (SEQ ID NO: 5), y

(iii) la secuencia que contiene V_H -CDR3 es ESMGAINDN (SEQ ID NO: 6); y

15 (b) una cadena liviana que comprende una secuencia que contiene V_L -CDR1, una secuencia que contiene V_L -CDR2 y una secuencia que contiene V_L -CDR3, en donde:

(i) la secuencia que contiene V_L -CDR1 es IGNINNIGSHAVG (SEQ ID NO: 7),

(ii) la secuencia que contiene V_L -CDR2 es GRSPPS (SEQ ID NO: 8), y

(iii) la secuencia que contiene V_L -CDR3 es STWDSSLSAVV (SEQ ID NO: 9).

20 El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con el ítem 1, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno se une con GM-CSF humano con una K_D de menos de 400 pM.

El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con el ítem 2, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno neutraliza la actividad de hGM-CSF, de modo que el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tenga un valor de IC50 de menos de 100 pM tal como se determina en un ensayo de proliferación de TF-1 en ED80.

25 El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con el ítem 1 ó 2, en donde la cadena pesada está seleccionada del grupo que consiste en gamma 1 ($\gamma 1$), gamma 2 ($\gamma 2$), gamma 3 ($\gamma 3$) y gamma 4 ($\gamma 4$).

El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con el ítem 4, en donde la cadena pesada es gamma 1 ($\gamma 1$).

El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con el ítem 4 ó 5, en donde la cadena liviana es una cadena liviana lambda.

El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de los ítems 1-6, en donde la cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46 o de SEQ ID NO: 51.

El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con el ítem 7, en donde la cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51.

5 El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de los ítems 1-8, en donde la cadena liviana tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36.

El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno, de acuerdo con los ítems 1 a 6, en donde la secuencia de la región de cadena pesada variable es SEQ ID NO: 348 o es SEQ ID NO: 361 y en donde la secuencia de la región de cadena liviana variable es SEQ ID NO: 365.

10 El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con el ítem 10, en donde la secuencia de la región de cadena pesada variable es SEQ ID NO: 361.

El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno, de acuerdo con cualquiera de los ítems 1 a 6, en donde la secuencia de cadena pesada es SEQ ID NO: 46 o es SEQ ID NO: 51 y en donde la secuencia de cadena liviana es SEQ ID NO: 36.

15 El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno, de acuerdo con el ítem 12, en donde la secuencia de cadena pesada es SEQ ID NO: 51.

Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de los ítems 1 a 13 y un portador farmacéuticamente aceptable.

20 Un kit que comprende: (a) el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de los ítems 1 a 13 y (b) uno o varios recipientes que contienen el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno.

Un ácido nucleico aislado que codifica el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de los ítems 1 a 13.

El ácido nucleico aislado de acuerdo con el ítem 16, en donde el ácido nucleico es un ADN.

Un vector que comprende el ADN de acuerdo con el ítem 17.

25 Una célula huésped que comprende el vector de acuerdo con el ítem 18, en donde el vector es un vector de expresión.

El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de los ítems 1 a 13 o la composición farmacéutica de acuerdo con el ítem 14 para usar como un medicamento.

30 El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de los ítems 1 a 13 o la composición farmacéutica de acuerdo con el ítem 14 para usar en el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociados con sobreexpresión de hGM-CSF en un sujeto.

El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con el ítem 21, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra al sujeto en una dosis que no excede 500 mg.

35 El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con el ítem 21 ó 22, en donde la enfermedad o trastorno está seleccionada del grupo que consiste en enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, asma bronquial, asma pediátrica, asma severa, ataques agudos de asma, fibrosis quística, enfermedad pulmonar intersticial, rinitis, artritis y artropatías relacionadas, artritis reumatoidea, psoriasis, leucemia mieloide y esclerosis múltiple.

40 Un método para producir un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF de acuerdo con el ítem 1 o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con el ítem 1 que se une con hGM-CSF, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende al menos una secuencia que contiene V_H -CDR1, una secuencia que contiene V_H -CDR2, una secuencia que contiene V_H -CDR3, una secuencia que contiene V_L -CDR1, una secuencia que contiene V_L -CDR2 y una secuencia que contiene V_L -CDR3, en una célula huésped, que comprende:

(i) obtener la célula huésped que comprende al menos una secuencia de ADN que codifica al menos la secuencia que contiene V_H -CDR1, la secuencia que contiene V_H -CDR2, la secuencia que contiene V_H -CDR3, la secuencia que contiene V_L -CDR1, la secuencia que contiene V_L -CDR2 y la secuencia que contiene V_L -CDR3, en donde:

45 (a) la secuencia que contiene V_H -CDR1 es SYGMH (SEQ ID NO: 4),

(b) la secuencia que contiene V_H -CDR2 es LTYHHGNRKFYADSVRG (SEQ ID NO: 5),

(c) la secuencia que contiene V_H -CDR3 es ESMGAINDN (SEQ ID NO: 6),

(d) la secuencia que contiene V_L -CDR1 es IGNINNIGSHAVG (SEQ ID NO: 7),
 (e) la secuencia que contiene V_L -CDR2 es GRSPPS (SEQ ID NO: 8), y
 (f) la secuencia que contiene V_L -CDR3 es STWDSSLSAVV (SEQ ID NO: 9); y
 5 (ii) cultivar la célula huésped en condiciones apropiadas para la expresión de ADN y producción del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno.

Los siguientes ítems se refieren todos a aspectos de referencia:

Ítem 1. Una forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno reconoce ELYK (SEQ ID NO: 2) y TMMASHYKQH (SEQ ID NO: 3) en hGM-CSF (SEQ ID NO: 1).
 10 Ítem 2. Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, caracterizado porque dicho anticuerpo comprende:
 (a) una cadena pesada que comprende una secuencia consenso que contiene V_H -CDR1, una secuencia consenso que contiene V_H -CDR2 y una secuencia consenso que contiene V_H -CDR3, en donde:
 15 (i) la secuencia consenso que contiene V_H -CDR1 es FTFSX₁X₂MH (SEQ ID NO: 314), en donde X₁ es Y o H y X₂ es G o A,
 (ii) la secuencia consenso que contiene V_H -CDR2 es X₃X₄X₅HX_nGX_nX₆KX₇YADSVX₈G (SEQ ID NO: 315), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₃ es L o V, X₄ es T o I, X₅ es Y o W, X₆ es R o K, X₇ es F o Y y X₈ es R o K, y
 20 (iii) la secuencia consenso que contiene V_H -CDR3 es EX_nGX₁₀X_nX_nDX_n (SEQ ID NO: 316), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₉ es M o V y X₁₀ es A o G; y
 (b) una cadena liviana que comprende una secuencia consenso que contiene V_L -CDR1, una secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 y una secuencia consenso que contiene V_L -CDR3, en donde:
 25 (i) la secuencia consenso que contiene V_L -CDR1 es X_nGNX_nX_nNIGSX₁₁AVG (SEQ ID NO: 317), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X₁₁ es H o Y,
 (ii) la secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 es GX₁₂SPX₁₃SG (SEQ ID NO: 318), en donde X₁₂ es R o K y X₁₃ es A o P, y
 (iii) la secuencia consenso que contiene V_L -CDR3 es STWDSX₁₄LSAVX₁₅ (SEQ ID NO: 319), en donde X₁₄ es R o S y X₁₅ es V o L. En otra forma de realización el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del ítem 1 o ítem 2 se une específicamente con hGM-CSF, con preferencia con una K_D de menos de 450 pM.
 30 Ítem 3. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 1 ó 2 que, además de las características proporcionadas en el ítem 1 ó 2, se une con GM-CSF humano con una K_D de menos de 400 pM.
 Ítem 4. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 3, en donde la K_D es menor a 160 pM.
 35 Ítem 5. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-4, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno en la presente neutraliza la actividad de hGM-CSF, de modo tal que el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tenga un valor de IC50 de menos de 100 pM tal como se determina en un ensayo de proliferación de TF-1 en ED80.
 40 Ítem 6. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 5, en donde el valor de IC50 es de menos de 40 pM o de menos de 30 pM o de menos de 25 pM. Otros anticuerpos preferidos o su fragmento de unión a antígeno de la invención tienen valores de IC50 de menos de 20 pM, de menos de 25 pM, de menos de 30 pM o de menos de 40 pM, tal como se determina en un ensayo de proliferación de TF-1 en ED80.
 Ítem 7. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 5, en donde el valor de IC50 es menor de 20 pM.
 45 Ítem 8. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-7, en donde la cadena pesada está seleccionada del grupo que consiste en gamma 1 (γ_1),

gamma 2 (γ_2), gamma 3 (γ_3) y gamma 4 (γ_4).

Ítem 9. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-8, en donde la cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 10-33, 38-80, 160-183, 222-244 y 245.

5 Ítem 10. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-9, en donde la cadena liviana es una cadena liviana lambda.

Ítem 11. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 10, en donde la cadena liviana lambda comprende al menos una o las dos de las siguientes sustituciones de aminoácido: R100G o A153G.

10 Ítem 12. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-11, en donde la cadena liviana tiene una secuencia de aminoácidos seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 34-37, 202-220 y 221.

Ítem 13. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-9, en donde la cadena liviana es una cadena liviana kappa.

15 Ítem 14. Otra forma de realización es un anticuerpo tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-13, en donde la cadena pesada está seleccionada del grupo que consiste en gamma 1 (γ_1), gamma 2 (γ_2), gamma 3 (γ_3) y gamma 4 (γ_4) y en donde la cadena liviana es una cadena liviana lambda.

Ítem 15. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-13, en donde la cadena pesada comprende una o varias sustituciones de aminoácidos 20 seleccionadas del grupo que consiste en Q3E, T97A, T97V, N95D, N95E, N95K, N95Q, N93Q/N95T, K144R, L164A y L165A.

Ítem 16. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-15, en donde la V_H -CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos SYGMH (SEQ ID NO: 4) o SHAMH (SEQ ID NO: 333).

25 Ítem 17. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-16, en donde la V_H -CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos LTYHHGNRKFYADSVRG (SEQ ID NO: 5) o VIWHDGSKKKYADSVKG (SEQ ID NO: 334).

Ítem 18. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en 30 cualquiera de los ítems 1-17, en donde la V_H -CDR3 comprende la secuencia de aminoácidos ESMGAINDN (SEQ ID NO: 6) o EWVGGTCDS (SEQ ID NO: 335).

Ítem 19. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-18, en donde la V_L -CDR1 comprende la secuencia de aminoácidos IGNNNNIGSHAVG (SEQ ID NO: 7) o SGNSSNIGSYAVG (SEQ ID NO: 330).

Ítem 20. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en 35 cualquiera de los ítems 1-19, en donde la V_L -CDR2 comprende la secuencia de aminoácidos GRSPPS (SEQ ID NO: 8) o GKSPAS (SEQ ID NO: 331).

Ítem 21. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-20, en donde la V_L -CDR3 comprende residuos de los aminoácidos STWDSSLSSAVV (SEQ ID NO: 9) o STWDSRLSAV_L (SEQ ID NO: 332).

40 Ítem 22. Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende 6 diferentes CDR, en donde las secuencias de las 6 CDR son SEQ ID NOs: 4-9. En otra forma de realización, el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del ítem 22 se une específicamente con hGM-CSF, con preferencia con una K_D de menos de 450 pM, con preferencia 400 pM o 160 pM.

45 Ítem 22A. Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 1, en combinación con un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 2-22.

Ítem 23. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 50 22, en donde dicho anticuerpo comprende (i) una cadena pesada o su fragmento seleccionada del grupo que consiste en gamma 1 (γ_1), gamma 2 (γ_2), gamma 3 (γ_3) y gamma 4 (γ_4) y (ii) una cadena liviana que es una cadena liviana kappa.

Ítem 24. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 22, en donde dicho anticuerpo comprende (i) una cadena pesada o su fragmento seleccionada del grupo que consiste en gamma 1 (γ_1), gamma 2 (γ_2), gamma 3 (γ_3) y gamma 4 (γ_4) y (ii) una cadena liviana que es una cadena liviana lambda.

5 Ítem 25. Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno que se une específicamente con hGM-CSF, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende 6 diferentes CDR, en donde las secuencias de las 6 CDR son SEQ ID NOs: 330-335.

Ítem 26. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 25, en donde dicho anticuerpo comprende (i) una cadena pesada o su fragmento seleccionada del grupo que consiste en gamma 1 (γ_1), gamma 2 (γ_2), gamma 3 (γ_3) y gamma 4 (γ_4) y (ii) una cadena liviana que es una cadena liviana kappa.

10 Ítem 27. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 25, en donde dicho anticuerpo comprende (i) una cadena pesada seleccionada del grupo que consiste en gamma 1 (γ_1), gamma 2 (γ_2), gamma 3 (γ_3) y gamma 4 (γ_4) y (ii) una cadena liviana que es una cadena liviana lambda.

Ítem 28. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 25 de los ítems 1-27, que también comprende una secuencia señal.

15 Ítem 29. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 28, en donde la secuencia señal está seleccionada del grupo que consiste en: SEQ ID NOs: 324, 325 y 326.

Ítem 30. Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, donde dicho anticuerpo comprende una cadena pesada que tiene una secuencia de cadena pesada y una cadena liviana que tiene una secuencia de una cadena liviana, en donde la secuencia de cadena pesada es SEQ ID NO: 10 o una de sus variantes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 11-33, 38-79 y 80 y en donde la secuencia de cadena liviana es SEQ ID NO: 34.

20 Ítem 31. Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, donde dicho anticuerpo comprende una cadena pesada que tiene una secuencia de cadena pesada y una cadena liviana que tiene una secuencia de una cadena liviana, en donde la secuencia de cadena pesada es SEQ ID NO: 10 o una de sus variantes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 11-33, 38-79 y 80 y en donde la secuencia de cadena liviana es SEQ ID NO: 35.

Ítem 32. Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, donde dicho anticuerpo comprende una cadena pesada que tiene una secuencia de cadena pesada y una cadena liviana que tiene una secuencia de una cadena liviana, en donde la secuencia de cadena pesada es SEQ ID NO: 10 o una de sus variantes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 11-33, 38-79 y 80 y en donde la secuencia de cadena liviana es SEQ ID NO: 36.

25 Ítem 33. Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, donde dicho anticuerpo comprende una cadena pesada que tiene una secuencia de cadena pesada y una cadena liviana que tiene una secuencia de una cadena liviana, en donde la secuencia de cadena pesada es SEQ ID NO: 10 o una de sus variantes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 11-33, 38-79 y 80 y en donde la secuencia de cadena liviana es SEQ ID NO: 37.

Ítem 34. Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, donde dicho anticuerpo comprende una cadena pesada que tiene una secuencia de cadena pesada y una cadena liviana que tiene una secuencia de una cadena liviana, en donde la secuencia de cadena pesada es SEQ ID NO: 160 o una de sus variantes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 161-244 y 245 y en donde la secuencia de cadena liviana es SEQ ID NO: 202 o una de sus variantes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 203-220 y 221.

30 Ítem 35. Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, donde dicho anticuerpo comprende una región de cadena pesada variable, en donde la secuencia de aminoácidos de la región de cadena pesada variable es SEQ ID NO: 152 o una de sus variantes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 153-158 y 159 y una región de cadena liviana variable, en donde la secuencia de aminoácidos de la región de cadena liviana variable es SEQ ID NO: 184 o una de sus variantes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 185-200 y 201.

Ítem 36. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 35, en donde la secuencia de aminoácidos de la región de cadena pesada variable es SEQ ID NO: 152.

35 Ítem 37. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 35, en donde la secuencia de aminoácidos de la región de cadena liviana variable es SEQ ID NO: 184.

Ítem 38. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 35, en donde la secuencia de aminoácidos de la región de cadena pesada variable es SEQ ID NO: 152 y en donde la secuencia de aminoácidos de la región de cadena liviana variable es SEQ ID NO: 184.

5 Ítem 39. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 35-38, en donde dicho anticuerpo pertenece a la clase de IgG₁(λ) (subclase).

Ítem 40. Otra forma de realización es un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, donde dicho anticuerpo comprende una región de cadena pesada variable, en donde la secuencia de aminoácidos de la región de cadena pesada variable es SEQ ID NO: 348 o una de sus variantes seleccionadas del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 349-362 y 363 y una región de cadena liviana variable, en donde la secuencia de aminoácidos de la región de cadena liviana variable es SEQ ID NO: 364 o SEQ ID NO: 365.

10 Ítem 41. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 40, en donde la secuencia de aminoácidos de la región de cadena pesada variable es SEQ ID NO: 348.

Ítem 42. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 40, en donde la secuencia de aminoácidos de la región de cadena liviana variable es SEQ ID NO: 364.

15 Ítem 43. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 40, en donde la secuencia de aminoácidos de la región de cadena liviana variable es SEQ ID NO: 365.

Ítem 44. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 40-43, en donde dicho anticuerpo pertenece a la clase de IgG₁(λ) (subclase).

20 Ítem 45. Otra forma de realización es un ácido nucleico aislado que codifica el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno tal como se describe en los ítems 1-44.

Ítem 46. Otra forma de realización es un ácido nucleico tal como se describió en el ítem 45, en donde el ácido nucleico es ADN.

Ítem 47. Otra forma de realización es un vector que comprende el ADN tal como se describió en el ítem 46.

25 Ítem 48. Otra forma de realización es una célula huésped que comprende el vector tal como se describió en el ítem 47, en donde el vector es un vector de expresión.

Ítem 49. Otra forma de realización es un kit que comprende: (a) el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-44; y (b) uno o varios recipientes que contienen el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno.

30 Ítem 50. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-44, para usar en medicina.

Ítem 51. Otra forma de realización es una composición que comprende el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-44 y un portador farmacéuticamente aceptable.

35 Ítem 52. Otra forma de realización es una composición tal como se describió en el ítem 51, que también comprende un segundo anticuerpo aislado o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, de modo tal que la composición comprenda una pluralidad de dichos anticuerpos, una pluralidad de dicho fragmento de unión a antígenos o al menos uno de dicho anticuerpo y al menos uno de dicho fragmento de unión a antígeno, cada uno de los cuales se une con hGM-CSF.

Ítem 53. Otra forma de realización es una composición tal como se describió en el ítem 52, en donde al menos uno de los anticuerpos o sus fragmentos de unión a antígeno es un polipéptido que tiene una secuencia seleccionada del grupo que consiste en SEQ ID NOs: 10-80, 152-245, 320-323, 348-364 y 365.

40 Ítem 54. Otra forma de realización es un kit que comprende la composición tal como se describió en cualquiera de los ítems 51-53 y uno o varios recipientes que contienen la composición.

Ítem 55. Otra forma de realización es un kit tal como se describió en el ítem 49 o ítem 54, que también comprende una instrucción.

45 Ítem 56. Otra forma de realización es un anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno o la composición tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-44 y 51-54, para la fabricación o preparación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociados con sobreexpresión de hGM-CSF en un sujeto, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno se une con hGM-CSF y es capaz de neutralizar la actividad de hGM-CSF.

Ítem 57. Otra forma de realización es un uso tal como se describió en el ítem 56, en donde la enfermedad o trastorno está seleccionada del grupo que consiste en enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, fibrosis quística, enfermedad pulmonar intersticial, rinitis, artritis y artropatías relacionadas, psoriasis, leucemia mieloide y esclerosis múltiple.

5 Ítem 58. Otra forma de realización es un uso tal como se describió en el ítem 56 ó 57, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra al sujeto en una dosis que no excede 500 mg.

Ítem 59. Otra forma de realización es un uso del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno o la composición tal como se describió en cualquiera de los ítems 1-44 y 51-53, para el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociados con sobreexpresión de hGM-CSF en un sujeto, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno se une con hGM-CSF y es capaz de neutralizar la actividad de hGM-CSF.

10 Ítem 60. Otra forma de realización es un uso tal como se describió en el ítem 59, en donde la enfermedad o trastorno está seleccionada del grupo que consiste en enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, fibrosis quística, enfermedad pulmonar intersticial, rinitis, artritis y artropatías relacionadas, psoriasis, leucemia mieloide y esclerosis múltiple.

15 Ítem 61. Otra forma de realización es un uso tal como se describió en el ítem 59 ó 60, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra al sujeto en una dosis que no excede 500 mg.

Ítem 62. Otra forma de realización es un epitopo de hGM-CSF en polipéptidos tal como se establece en SEQ ID NOs: 2 y 3, en donde el epitopo es reconocido por el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tal como se describió en el ítem 22 ó 25 y en donde las secuencias de polipéptidos representan un segmento discontinuo de hGM-CSF (SEQ ID NO: 1).

20 Ítem 63. Otra forma de realización es un epitopo que es un segmento discontinuo de GM-CSF humano, en donde el epitopo comprende residuos de los aminoácidos 77-80 de GM-CSF humano (SEQ ID NO: 1) y residuos de los aminoácidos 95-104 de GM-CSF humano (SEQ ID NO: 1) y es reconocido por un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que comprende 6 diferentes CDR tal como se establece en SEQ ID NOs: 4-9 o SEQ ID NOs: 330-335.

Ítem 64. Otra forma de realización es un método para producir un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno que se une con hGM-CSF, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende al menos una secuencia consenso que contiene V_H -CDR1, una secuencia consenso que contiene V_H -CDR2, una secuencia consenso que contiene V_H -CDR3, una secuencia consenso que contiene V_L -CDR1, una secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 y una secuencia consenso que contiene V_L -CDR3, en una célula huésped, que comprende:

30 (i) obtener la célula huésped que comprende al menos una secuencia de ADN que codifica al menos la secuencia consenso que contiene V_H -CDR1, la secuencia consenso que contiene V_H -CDR2, la secuencia consenso que contiene V_H -CDR3, la secuencia consenso que contiene V_L -CDR1, la secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 y la secuencia consenso que contiene V_L -CDR3, en donde:

35 (a) la secuencia consenso que contiene V_H -CDR1 es FTFSX₁X₂MH (SEQ ID NO: 314), en donde X₁ es Y o H y X₂ es G o A,

 (b) la secuencia consenso que contiene V_H -CDR2 es X₃X₄X₅HX_nGX_nX₆KX₇YADSVX₈G (SEQ ID NO: 315), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₃ es L o V, X₄ es T o I, X₅ es Y o W, X₆ es R o K, X₇ es F o Y y X₈ es R o K,

40 (c) la secuencia consenso que contiene V_H -CDR3 es EX_nGX₁₀X_nX_nDX_n (SEQ ID NO: 316), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₉ es M o V y X₁₀ es A o G,

 (d) la secuencia consenso que contiene V_L -CDR1 es X_nGNX_nX_nNIGSX₁₁AVG (SEQ ID NO: 317), en donde cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X₁₁ es H o Y,

45 (e) la secuencia consenso que contiene V_L -CDR2 es GX₁₂SPX₁₃SG (SEQ ID NO: 318), en donde X₁₂ es R o K y X₁₃ es A o P, y

 (f) la secuencia consenso que contiene V_L -CDR3 es STWDSX₁₄LSAVX₁₅ (SEQ ID NO: 319), en donde X₁₄ es R o S y X₁₅ es V o L; y

 (ii) cultivar la célula huésped en condiciones apropiadas para la expresión de said ADN y producción del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno.

50 De ahora en más, se describirán los ejemplos de la presente invención más específicamente, pero los ejemplos no limitan el alcance de la presente invención.

EJEMPLOS

Ejemplo 1. Aislamiento de clones de células que producen anticuerpos completamente humanos contra hGM-CSF (hGM-CSF).

FIG. 1 muestra un diagrama de flujo de aislamiento de clones celulares que producen anticuerpos. Los linfocitos B se aislaron de sangre de donantes, cuyos sueros tenían altos títulos de anticuerpo monoclonal anti-GM-CSF, luego se infectaron con EBV. Se usaron las células proliferadas después de la infección con EBV como bibliotecas para células que producen anticuerpos.

Las células de la biblioteca de células que producen anticuerpos se dispersaron en placas de 96 cavidades y se cultivaron durante 3 a 4 semanas. El sobrenadante de cultivo de cada cavidad se analizó respecto de la presencia de anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF. El control se llevó a cabo por medio de ELISA usando placas de 96 cavidades recubiertas con hGM-CSF recombinante (rhGM-CSF). Las células en cavidades positivas para la producción de anticuerpos se sembraron en nuevas placas de 96 cavidades y se cultivaron durante 3 a 4 semanas y luego el sobrenadante de cultivo de cada cavidad se sometió al segundo análisis respecto de la presencia de anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF. Las células en cavidades positivas para la producción de anticuerpos se sometieron a un cultivo de dilución limitada en placas de 96 cavidades durante 3 a 5 semanas. Después de ello, el sobrenadante de cultivo de cada cavidad se examinó respecto de la presencia del anticuerpo y los clones celulares que producen anticuerpos se obtuvieron finalmente de las cavidades plaqueadas a 1 célula por cavidad.

Ejemplo 2. Identificación de isotipo y subclase de anticuerpos

Identificamos el isotipo y la subclase de los anticuerpos producidos por tres clones celulares que producen anticuerpos, EV1007, EV1018 y EV1019 (Tabla 1). La identificación se realizó por medio de ELISA, que era esencialmente igual a la usada para el análisis de la producción de anticuerpos en sobrenadantes de cultivo, usando los sobrenadantes de cultivo como el primer anticuerpo y el isotipo y anticuerpos específicos del subtipo como el segundo anticuerpo.

La Tabla 1 muestra el nombre de los anticuerpos y sus subclases para los tres anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF recién obtenidos y el anticuerpo monoclonal J158 4C (mencionado después como EV 1003 en la presente), que se informó en la publicación internacional PCT WO 07/049472.

Tabla 1

Anticuerpo	Subclase
EV1007	IgG ₁ λ
EV1018	IgG ₁ λ
V1019	IgG ₁ λ
EV1003	IgG ₁ λ

Ejemplo 3. Clonación de genes de anticuerpo de las células que producen anticuerpos.

Los genes de anticuerpo se clonaron de las células que producen anticuerpos. El ARN total se extrajo de las células que producen anticuerpos y su cADN se sintetizó usando cebador oligo-dT y transcriptasa inversa.

Usando el cADN como una plantilla, los genes que codifican anticuerpos humanos se amplificaron por PCR. Los cebadores se diseñaron en base a bases de datos de secuencias de ADN de genes de anticuerpo de modo que el extremo 5' contenía el sitio de inicio de la transcripción y el extremo 3' contenía el sitio de terminación de la traducción.

Ejemplo 4. Determinación de las secuencias de aminoácidos de los anticuerpos en base a las secuencias de nucleótidos

Los cADN de los genes de anticuerpo [EV007, EV1018 y EV1019, que consisten cada uno en genes de cadena pesada (H) y de cadena liviana (L)] se clonaron en vectores de plásmido y sus secuencias de nucleótidos se analizaron por medio de un secuenciador (ABI). Sus secuencias de aminoácidos se determinaron en base a las secuencias de nucleótidos obtenidas. Para el análisis de las regiones determinantes complementarias (CDR) de los anticuerpos (EV1007, EV1018, EV1019 y EV1003), se usó un método de Kabat. Las secuencias de CDR de los cuatro anticuerpos se indican por medio de SEQ ID NOS: 4 a 9 y 330 a 347. Específicamente, CDR1 de cadena L, CDR2 de cadena L,

5 CDR3 de cadena L, CDR1 de cadena H, CDR2 de cadena H y CDR3 de cadena H de EV1018 se establecen en SEQ ID NOs: 4 a 9, respectivamente. CDR1 de cadena L, CDR2 de cadena L, CDR3 de cadena L, CDR1 de cadena H, CDR2 de cadena H y CDR3 de cadena H de EV1019 se establecen en SEQ ID NOs: 330 a 335, respectivamente CDR1 de cadena L, CDR2 de cadena L, CDR3 de cadena L, CDR1 de cadena H, CDR2 de cadena H y CDR3 de cadena H de EV1003 están en SEQ ID NOs: 336 a 341, respectivamente. CDR1 de cadena L, CDR2 de cadena L, CDR3 de cadena L, CDR1 de cadena H, CDR2 de cadena H y CDR3 de cadena H de EV1007 están en SEQ ID NOs: 342 a 347, respectivamente.

Ejemplo 5. Confirmación de los genes de anticuerpo obtenidos al codificar los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF.

10 Los genes que codifican los tres anticuerpos (cada uno consiste en cadenas H y L) se insertaron en vectores de expresión. Los plásmidos que codifican los genes de cadena L y H de cada anticuerpo se transfecionaron transitoriamente en células 293T usando Lipofectamina y reactivo Plus (Invitrogen) y se ensayaron respecto de la expresión transitoria de anticuerpos.

15 Dos días después de la transfección, se recolectaron los sobrenadantes celulares de cultivo que contenían los anticuerpos segregados. Se detectaron IgG humana y anticuerpo monoclonal anti-GM-CSF en los sobrenadantes de cultivo por medio de ELISA para confirmar la expresión transitoria de los anticuerpos humanos y anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales.

Ejemplo 6. Establecimiento de células transfectantes CHO estables que expresan anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF.

20 Los vectores de expresión que codifican los anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales se transfecionaron en células CHO-K1 tal como se describió con anterioridad. Dos días después de la transfección, las células se sembraron en una placa de 96 cavidades y se cultivaron en el medio de selección que contenía un marcador de selección apropiado durante aproximadamente dos semanas. El sobrenadante de cultivo de cada cavidad se analizó respecto del anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF por medio de ELISA. Se plaquearon células individuales en las cavidades positivas para la expresión de anticuerpos en cavidades de una placa de 96 cavidades. Los clones individuales de células cultivados en el medio selectivo se analizaron respecto de la expresión de anticuerpo monoclonal anti-GM-CSF y se obtuvieron clones de células que expresan establemente anticuerpo monoclonal anti-GM-CSF.

Ejemplo 7. Purificación de anticuerpos.

30 Se cultivaron clones de células CHO que expresan establemente anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales en un medio libre de suero. Después del respectivo período de expresión, los sobrenadantes de cultivo se recolectaron y los anticuerpos se aislaron por medio de una cromatografía por afinidad usando una columna preempaquetada HiTrap rProtein A FF (Amersham) de acuerdo con la instrucción del fabricante. Se confirmó que los anticuerpos purificados tenían una actividad de unión con hGM-CSF por medio de ELISA y consistían en aproximadamente 50 kDa de cadena H y aproximadamente 25 kDa de cadena L de anticuerpo por medio de SDS-PAGE.

Ejemplo 8. Análisis de afinidad de anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales.

35 Para calcular las constantes de afinidad para la unión de hGM-CSF recombinante con anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF, se realizó resonancia por plasmón de superficie (SPR) en un Biacore System™ (FIG. 2).

40 En el método para analizar la interacción entre los anticuerpos y los antígenos, se capturaron los anticuerpos purificados en un chip sensor por interacción con la proteína G inmovilizada en la superficie del chip sensor y luego se inyectaron antígenos recombinantes en el chip sensor. Se usaron anticuerpos purificados y se usó hGM-CSF recombinante como un antígeno.

Las constantes de disociación del equilibrio (K_D) para hGM-CSF recombinante derivado de levadura (Leukine Berlex) y de *E. coli* (Peprotech) con anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2

Anticuerpo	Constantes de disociación de equilibrio (K_D ((M))	
	Leukine	Peprotech
EV1007	$1,2 \times 10^{-9}$	$9,3 \times 10^{-10}$
EV1018	$2,3 \times 10^{-10}$	$1,5 \times 10^{-10}$

Anticuerpo	Constantes de disociación de equilibrio (K_D ((M))	
	Leukine	Peprotech
EV1019	$3,6 \times 10^{-10}$	$1,5 \times 10^{-10}$
EV1003	$2,3 \times 10^{-10}$	$9,5 \times 10^{-11}$

En este ensayo, los valores K_D para GM-CSF de levadura (Leukine) eran $1,2 \times 10^{-9}$ M para EV1007, $2,3 \times 10^{-10}$ M para EV1018 y $3,6 \times 10^{-10}$ M para EV1019. El valor K_D para el anticuerpo monoclonal EV1003 que se había generado previamente era $2,3 \times 10^{-10}$ M.

5 El valor K_D de *E. coli* (Peprotech) era $9,3 \times 10^{-10}$ M para EV1007, $1,5 \times 10^{-10}$ M para EV1018, $1,5 \times 10^{-10}$ M para EV1019 y $9,5 \times 10^{-11}$ M para EV1003. Los cuatro anticuerpos monoclonales hGM-CSF generados se unieron con hGM-CSF recombinantes con gran afinidad.

Ejemplo 9. Efecto inhibidor de anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales sobre la proliferación de células dendríticas de sangre periférica.

10 5×10^5 de células dendríticas (DCs) con DC plasmacitoides y DC mieloides se obtuvieron de 7×10^7 de células mononuclear humanas usando Blood Dendritic Cell Isolation Kit II Human (Miltenyi Biotech).

Las DC obtenidas se suspendieron en medio RPMI 1640 (Gibco) suplementado con 10% de FCS, rhGM-CSF (1 ng/mL, Peprotech), TNF- α (10 ng/mL) y anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales (1 μ g/mL), se sembraron en placas de fondo plano de 96 cavidades a una concentración de 2×10^4 células/cavidad y se incubaron durante 10 días.

15 El anticuerpo polyclonal anti-GM-CSF (anti-GM-CSF pAbs, R&D) (1 μ g/mL) y anticuerpo monoclonal de citomegalovirus humano antihumano (hIgG) (1 μ g/mL), que habíamos generado, se usaron como controles. El resultado se muestra en la FIG. 3.

Como se puede ver en la FIG. 3, EV1003, EV1018 y EV1019 inhibían la proliferación de DC dependiente de GM-CSF. Por el contrario, EV1007 no mostró inhibición. Por otro lado, anti-GM-CSF pAb inhibió la proliferación de DC dependiente de GM-CSF, pero hIgG no lo hizo.

EV1003, EV1018 y EV1019 podían bloquear de modo independiente la proliferación de DC dependiente de GM-CSF.

Ejemplo 10. Evaluación de la potencia neutralizante de anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales usando células TF-1

Ensayamos la capacidad neutralizante de los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF purificados (EV1007, EV1018 y EV1019) y EV1003, que se generó previamente usando células TF-1, que proliferan según la presencia de hGM-CSF, tal como se muestra en las FIG. 4 y 5.

Los anticuerpos purificados se preincubaron con hGM-CSF recombinante y la mezcla se añadió al cultivo celular TF-1. Después de 2 días de cultivo, se determinó el estado proliferativo de las células TF-1 por medio de un ensayo colorimétrico. El anticuerpo que poseía la actividad neutralizante de GM-CSF podía bloquear la actividad de GM-CSF recombinante añadida, dando como resultado la inhibición del crecimiento de células TF-1 dependientes de GM-CSF.

30 Las FIGs. 4 y 5 muestran los efectos de inhibición (actividad neutralizante) de los anticuerpos sobre la proliferación de células TF-1 estimuladas por hGM-CSF de levadura (Leukine) y *hGM-CSF de E. coli* (Peprotech), respectivamente.

Cada anticuerpo se evaluó independientemente respecto de su efecto de inhibición y se usaron anti-GM-CSF pAb y hIgG como controles tal como se describe en el Ejemplo 9.

35 Se ensayaron los anticuerpos con cuatro diluciones seriales por cuatro en un rango concentración de 2 μ g/mL a 31 pg/mL. Se usó una concentración final de 0,5 ng/mL de rhGM-CSF para todos los ensayos. Después de 40 h de incubación, se estimó la viabilidad celular TF-1 por la intensidad del color de A450/ref. A495 usando un Cell Counting Kit (ensayo WST-1, DOJIN).

40 En el eje y de las FIGs. 4 y 5, la viabilidad celular TF-1 con hIgG de control a 31 pg/mL se fijó en un 100% y la viabilidad celular TF-1 sin rhGM-CSF se fijó en el 0%. Los anticuerpos ensayados se indican en la parte de debajo de las figuras y sus concentraciones se indican del lado derecho de las figuras.

rhGM-CSF de levadura (Leukine) a una concentración de 0,5 ng/mL se usó para estimular la proliferación de células TF-

1 y los resultados de la capacidad neutralizante de cada anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF se muestran en la FIG. 4. Si bien hIgG como un control negativo exhibía una inhibición no específica del crecimiento celular a una alta concentración de 2 μ g/mL, no mostró inhibición a menos de 2 μ g/mL de concentración. Los anticuerpos policlonales anti-hGM-CSF (anti-GM-CSF pAbs) mostraron una inhibición del crecimiento celular según las concentraciones de anticuerpo a 125 ng/mL o más de 125 ng/mL.

5 Entre los anticuerpos monoclonales purificados, EV1003 inhibió el crecimiento de células TF1 al 60% del control positivo a una concentración de 31 ng/mL y se observó una inhibición del crecimiento dependiente de la concentración a 31 ng/mL o más que 31 ng/mL. EV1018 y EV1019 mostraron aproximadamente 50% de inhibición en concentraciones de 0,5 ng/mL o más de 0,5 ng/mL y 2 ng/mL o más de 2 ng/mL, respectivamente. Se confirmó que EV1018 y EV1019
10 tenían una actividad de neutralización extremadamente alta para hGM-CSF. EV1007 mostró una inhibición del crecimiento celular claramente en concentraciones de 0,5 μ g/mL o más de 0,5 μ g/mL, indicando que su capacidad de neutralización era muy baja.

15 rhGM-CSF de *E. coli* (Peprotech) a una concentración de 0,5 ng/mL se usó para estimular la proliferación de células TF-1 y los resultados de la capacidad de neutralización de cada anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF se muestran en la FIG. 5. En este ensayo, hIgG como un control negativo exhibió una inhibición no específica del crecimiento celular a una elevada concentración de 2 μ g/mL, pero no mostró inhibición a menos de 2 μ g/mL de concentración. Los anticuerpos policlonales anti-hGM-CSF (anti-GM-CSF pAbs) mostraron una inhibición del crecimiento celular dependiente de las concentraciones de anticuerpo a 31 ng/mL o más de 31 ng/mL.

20 Entre los anticuerpos monoclonales purificados, EV1003 mostró una clara inhibición de proliferación de células TF1 en una manera dependiente de la concentración a 31 ng/mL o más de 31 ng/mL. EV1018 y EV1019 mostraron más del 50% de inhibición en concentraciones de 0,5 ng/mL o más de 0,5 ng/mL y 2 ng/mL o más de 2 ng/mL, respectivamente. Se confirmó que las actividades neutralizantes de EV1018 y EV1019 eran extremadamente altas.

EV1007 mostró inhibición del crecimiento celular claramente a una concentración de 0,5 μ g/mL o más de 0,5 μ g/mL, lo que indica que su capacidad neutralizante era muy baja en comparación con EV1018 y EV1019.

25 Se evaluó la capacidad neutralizante de la combinación de dos anticuerpos (FIGs. 6 y 7). Se enumeraron cinco combinaciones de anticuerpos mixtos en la Tabla 3.

Tabla 3

Mix-1	EV1003+hIgG
Mix-2	EV1003+EV1007
Mix-3	EV1003+EV1018
Mix-4	EV1003+EV1019
Mix-5	EV1018+EV1019

30 Se prepararon soluciones de ensayo para cada anticuerpo por dilución serial x 4 en un rango de concentraciones de 4 μ g/mL a 62 pg/mL y se mezclaron dos anticuerpos de la misma concentración (la concentración final se muestra en las FIGs. 6 y 7). Se estimó la viabilidad celular TF-1 por medio de la intensidad de color de A450/ref. A495 usando un Cell Counting Kit (ensayo WST-1, DOJIN).

35 En el eje y de las FIGs. 6 y 7, la viabilidad celular TF-1 con hIgG de control a 31 pg/mL se fijó en el 100% y la viabilidad celular TF1 sin rhGM-CSF se fijó en un 0% tal como se muestra en las FIGs. 4 y 5. Los resultados de la viabilidad celular TF1 con hIgG de control a 31 pg/mL se muestran en las FIGs. 4 y 5, pero no en las FIGs. 6 y 7. Las combinaciones de anticuerpos mixtos se indicaban en la parte inferior de las figuras y sus concentraciones se indicaron en el lado derecho de las figuras.

40 Entre estas combinaciones, los efectos de inhibición de Mix-2:EV1003+1007, Mix-3: EV1003+1018 y Mix-4:EV1003+1019 estaban extremadamente incrementados en comparación con un uso simple de cada anticuerpo. Por ejemplo, tal como se ve en la FIG 6, Mix-4:EV1003+1019 inhibió el crecimiento de células TF 1 al 10% del control positivo en cada concentración de anticuerpo de 8 ng/mL (aproximadamente 55 pM).

Tal como se muestra en la FIG. 4, EV1003 solo no mostró inhibición de la proliferación de células TF1 a una concentración de 8 ng/mL y EV1019 solo mostró únicamente un 50% de inhibición a una concentración de 8 ng/mL.

Estos resultados indicaban que la combinación de dos anticuerpos exhibía actividades de neutralización extremamente altas.

Si bien el efecto inhibidor de EV 1007 en un uso simple era muy bajo, Mix-2:EV1003+1007 inhibió el crecimiento de células TF1 al 10% del control positivo en una concentración de anticuerpo de 8 ng/mL (aproximadamente 55 pM), tal como se muestra en las FIGs. 6 y 7.

Como se muestra en la FIG. 7, al usar rhGM-CSF de *E. coli* (Peprotech) para estimular la proliferación de células TF-1, el crecimiento celular se había inhibido casi por completo por Mix-2:EV1003+1007, Mix-3:EV1003+1018 y Mix-4:EV1003+1019 en cada concentración de 31 ng/mL o más de 31 ng/mL. Se confirmó que la adición combinada de los anticuerpos exhibía una actividad neutralizante extremamente fuerte.

10 Por otro lado, el efecto inhibidor de Mix-5:EV1018+1019 se incrementó de una manera dependiente de la concentración en comparación con los anticuerpos con un uso simple tal como se muestra en las FIGs. 4 y 5, sin embargo, el efecto incrementado era menor que el de Mix-2 a 4.

En el caso de Mix-5:EV1018+1019, cuyo efecto de mezcla no era remarcable, las curvas en función de la dosis (patrón de efecto neutralizante) de ambos anticuerpos con un uso único eran similares.

15 Tal como se muestra en las FIGs. 4 y 5, entre cuatro anticuerpos (EV1003, EV1007, EV1018 y EV1019), EV 1003 mostró la inhibición más fuerte en un único uso a una concentración de 2 μ g/ml, pero incluso a esta elevada concentración, quedó aproximadamente un 20% de las células. Por el contrario, Mix-2, Mix-3 y Mix-4 inhibieron el crecimiento celular casi por completo en un rango de concentración de 31 a 125 ng/mL. Se indicó que estas tres combinaciones (Mix-2, Mix-3 y Mix-4) exhibían actividades neutralizantes extremamente altas.

20 El uso combinado de anticuerpo monoclonal anti-GM-CSF (EV1003) y anticuerpo anti-CMV (hIgG), Mix-1, no mejoró el efecto inhibidor de los anticuerpos en comparación con su único uso.

Entre tres anticuerpos obtenido en la presente invención, dos anticuerpos (EV1018 y EV1019) mostraron actividades de neutralización extremamente altas en un único uso y uso combinado. Entre las combinaciones de los anticuerpos enumerados en la Tabla 3, ciertas combinaciones exhibían una mayor capacidad neutralizante que un efecto aditivo de ambos anticuerpos.

25 Los anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales generados como antes o sus porciones de unión a antígeno son capaces de unirse específicamente con hGM-CSF que causan diversas enfermedades e inactivar (neutralizar) las bioactividades de hGM-CSF. Así, los anticuerpos o sus porciones de unión a antígeno tienen una mayor actividad neutralizante contra hGM-CSF que los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF que se han hecho hasta ahora (disponibles en la actualidad). Los anticuerpos o sus porciones de unión a antígeno no muestran inmunogenicidad y no inducen respuesta inmune dado que son anticuerpos monoclonales humanos.

30 Además, un uso combinado simultáneo de los anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales o sus porciones de unión a antígeno exhibe un efecto inhibidor extremadamente mayor sobre el crecimiento celular (es decir, actividad neutralizante) en comparación con su uso único.

35 Considerando estas propiedades, los anticuerpos monoclonales anti-hGM-CSF o sus porciones de unión a antígeno descritas en la presente invención serán efectivos en una dosis baja como agentes preventivos o terapéuticos para enfermedades asociadas con GM-CSF elevado, que incluyen, pero sin limitación, enfermedades alérgicas tales como asma, EPOC, fibrosis quística, enfermedad pulmonar intersticial, rinitis, atopía y polinosis, rechazo al injerto, enfermedad de injerto versus huésped (GVHD), artritis y artropatías relacionadas, psoriasis, leucemia mieloide, 40 esclerosis múltiple, enfermedad de Alzheimer y artritis reumatoidea.

Ejemplo 11. Mediciones por afinidad de anticuerpos monoclonales anti-GM-CSF en Biacore hGM-CSF.

Se usan chips Biacore de ratón antihumano (GE Healthcare) para inmovilizar cada uno de los anticuerpos y se deja unir GM-CSF soluble purificado asequible en comercios (Biomol). El hGM-CSF usado en estos experimentos es el mismo que se usó en los bioensayos descritos más abajo. Las afinidades de unión se determinan usando el software Biacore y los resultados se resumen en la Tabla 4.

Tabla 4

Anticuerpo	k_a	k_d	K_D
EV1003	$1,05 \times 10^6 \pm 0,01$	$2,15 \times 10^{-4} \pm 0,01$	$203 \pm 2 \text{ pM}$

Anticuerpo	k_a	k_d	K_D
EV1019	$8,13 \times 10^5 \pm 0,19$	$1,21 \times 10^{-4} \pm 0,01$	$152 \pm 1 \text{ pM}$
EV1018	$1,11 \times 10^6 \pm 0,03$	$1,44 \times 10^{-4} \pm 0,37$	$112 \pm 6 \text{ pM}$

EV1018 tiene una mayor afinidad de unión que EV1019 y una afinidad de unión mucho mayor que EV 1003. Todas las variantes de EV1018 tienen afinidades de unión iguales a las de EV1018 de tipo salvaje.

Reactividad cruzada con GM-CSF de otras especies (rhesus, ratón, mono tití)

5 La secuencia GM-CSF de rhesus está presente en las bases de datos públicas (por ejemplo, N.^º de acceso a GenBank NP_001028121) y se usa para diseñar un clón de expresión como una proteína de fusión Fc. Los sitios de clivaje de proteasa se introducen para permitir la liberación de proteína sin rotular GM-CSF de rhesus. La proteína resultante poseía una excelente actividad biológica (ver siguiente sección) y es reconocida por todos los anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales (EV 1018, EV1019, EV 1003) en Western blots (datos no mostrados). Se llevan a cabo las mediciones 10 con Biacore (usando el mismo ajuste descrito en el punto 1.1 anterior) y los resultados se dan en la Tabla 5.

Tabla 5. Estudios de unión de anticuerpo monoclonal GM-CSF de rhesus con anti-GM-CSF

Anticuerpo	k_a	k_d	K_D
EV1003	$5,39 \times 10^5 \pm 0,06$	$3,56 \times 10^{-4} \pm 0,04$	$661 \pm 14 \text{ pM}$
EV1019 lote 1	$2,91 \times 10^5 \pm 0,23$	$2,14 \times 10^{-4} \pm 0,01$	$739 \pm 57 \text{ pM}$
EV1019 lote 2	$3,04 \times 10^5 \pm 0,13$	$1,65 \times 10^{-4} \pm 0,17$	$543 \pm 34 \text{ pM}$
EV1018	$5,56 \times 10^5 \pm 0,52$	$2,11 \times 10^{-4} \pm 0,06$	$381 \pm 16 \text{ pM}$

15 En todos los casos, la reactividad cruzada con GM-CSF de rhesus es excelente (todos los anticuerpos monoclonales anti-GM-CSF reconocen la proteína GM-CSF de rhesus con un factor de casi dos a tres menos que el hGM-CSF). Con ello, los monos rhesus proporcionan un excelente modelo de primate no humano para el desarrollo de dichos anticuerpos monoclonales anti-GM-CSF revelados.

Se realizan mediciones con GM-CSF de ratón (PeproTech y Biomol; por ejemplo, N.^º de acceso a GenBank NP_034099) y los resultados se resumen en la Tabla 6.

Tabla 6. Estudios de unión de anticuerpo monoclonal anti-GM-CSF de GM-CSF monoclonal de ratón

Anticuerpo	k_a	K_d	K_D
EV1003	n. d.	n. d.	n. d.
EV1019	$1,1 \times 10^5 \pm 0,1$	$6 \times 10^{-3} \pm 2$	$62 \pm 27 \text{ nM}$
EV1018	$1,9 \times 10^5 \pm 0,2$	$3,4 \times 10^{-2} \pm 1,7$	$193 \pm 60 \text{ nM}$

En todos los casos, la reactividad cruzada con GM-CSF de ratón es muy pobre. Estos datos proporcionan una base para experimentos que tienen por objeto en la identificación del epitopo hGM-CSF unirse con los anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales, en donde se establecieron los híbridos de proteína GM-CSF entre ratón y ser humano.

5 Se genera un clon de expresión de GM-CSF de mono tití (por ejemplo, N.º de acceso a GenBank BOKWQ4 con Metionina en la posición 53 y Prolina en la posición 109) similar al clon de expresión de GM-CSF de rhesus descrito con anterioridad. La proteína purificada se usa para mediciones de Biacore y los resultados se resumen en la Tabla 7.

Tabla 7. Estudios de unión de anticuerpo monoclonal anti-GM-CSF de GM-CSF de mono tití

Anticuerpo	k_a	k_d	K_D
EV1003	n. d.	n. d.	n. d.
EV1019	$2,1 \times 10^5 \pm 0,1$	$2,14 \times 10^{-4} \pm 0,01$	$1,4 \pm 0,1 \text{ nM}$
EV1018	$3,64 \times 10^5 \pm 0,01$	$7,6 \times 10^{-4} \pm 0,3$	$2,1 \pm 0,1 \text{ nM}$

10 La reactividad cruzada con GM-CSF de mono tití es significativa. Todos los anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales reconocen proteína GM-CSF de mono tití con un factor de casi 18 a 19 veces menor que el hGM-CSF. Como en el caso de los monos rhesus, los monos tití proporcionan un excelente modelo animal para el desarrollo de dichos anticuerpos monoclonales anti-GM-CSF descritos.

Ejemplo 12. Actividad biológica: Neutralización de la bioactividad de GM-CSF

15 *Ensayo de proliferación de TF-1 (GM-CSF de humano, rhesus, mono tití)*

La proliferación de la línea celular humana TF-1 es dependiente de los factores de crecimiento. Esta línea celular se conoce en el arte como una excelente base para estudios del efecto biológico de factores de crecimiento.

20 Aquí usamos GM-CSF recombinante (rGM-CSF) para diferentes especies tales como (i) hGM-CSF recombinante (rhGM-CSF) de hGM-CSF expresado en *E. coli* (empresa Biomol #2514) usando técnicas estándar bien conocidas en el arte o (ii) GM-CSF recombinante de rhesus (rrGM-CSF) de GM-CSF de rhesus (por ejemplo, N.º de acceso a GenBank NP_001028121) o (ii) GM-CSF recombinante de mono tití (rmGM-CSF) de GM-CSF de mono tití (por ejemplo, N.º de acceso a GenBank BOKWQ4 con Metionina en la posición 53 y Prolina en la posición 109) ambas expresadas en HEK 293 usando técnicas estándar bien conocidas en el arte.

25 Se cultivan células TF-1 en medio de cultivo celular (RPMI 1640 (Cat. 31870 de la empresa Gibco), 1x Glutamax 100x (Cat. 35050-038 de la empresa Gibco), 1 mM de piruvato de sodio 100 mM (Cat. 11360-039 de la empresa Gibco)), 10 mM de Hepes 1 M (Cat. 15690-056 de la empresa Gibco), 10% de FCS (Cat. 10500-064 de la empresa Gibco), 2 ng/ml de rGM-CSF, (Cat. 200-005L de la empresa ReliaTech GmbH). Las células se lavan tres veces con PBS y se siembran en placas de 96 cavidades (Cat. 167008 de la empresa Nunc) en medio de ensayo (medio de cultivo celular sin rGM-CSF) en una concentración de 1E5 célula/ml. Se diluyen solución de anticuerpo y solución de GM-CSF en medio de dilución (medio de cultivo celular sin FCS y sin rGM-CSF) y se añaden en un volumen de 10 µl, respectivamente. Las células se incuban durante 3 días a 37 °C y 5% de CO₂ en una cámara humidificada. Se mide la vitalidad celular por adición de 20 µl de MTS y se mide la densidad óptica a 492 nm, de acuerdo con la instrucción del kit (ensayo de proliferación celular de una solución acuosa CellTiter 96, de la empresa Promega, Cat. N.º G3581). El control negativo son células TF-1 cultivadas en medio de cultivo celular que no contiene rGM-CSF. El control positivo son células TF-1 cultivadas en medio de cultivo celular que contiene rGM-CSF en concentración de ED80.

30 Antes de ensayar la capacidad neutralizante de los anticuerpos, se determinó la ED₈₀ para la estimulación de la proliferación con GM-CSF de humano, rhesus y mono tití (Tabla 8). GM-CSF humano y de rhesus son capaces de estimular la proliferación de TF-1 de forma muy eficaz (ED_{80[humano]}: 1,5 ng/ml; ED_{80[rhesus]}: 7 ng/ml), sin embargo, el GM-CSF de mono tití es más bien un estimulador ineficaz de la proliferación de TF-1. En consecuencia, la línea celular humana de TF-1 es apropiada para ensayar la actividad neutralizante contra GM-CSF de humano y rhesus, aunque no es apropiada para ensayar GM-CSF derivado de mono tití.

Tabla 8. ED80 para GM-CSF de humano, rhesus y mono tití en el ensayo de proliferación de TF-1

Especies	GM-CSF	ED80
humano	rhGM-CSF (derivado de <i>E. coli</i>)	1,5 ng/ml
rhesus	rrGM-CSF (derivado de células HEK)	7 ng/ml
mono tití	rmGM-CSF (derivado de células HEK)	1 µg/ml

La determinación de IC50 de los anticuerpos se lleva a cabo en concentraciones de ED80.

En el eje y de las FIGs. 8A y 8B, la viabilidad de células TF-1 del control positivo se fijó en un 100% y la viabilidad de células TF-1 del control negativo se fijó en un 0%.

También se usa un anticuerpo con una actividad neutralizante conocida, anticuerpo IgG2a anti-hGM-CSF de rata asequible en comercios (BVD2-23B6, empresa BD Pharmingen #554501) (Tabla 9). La IgG2a de rata de anticuerpo de control de isótipo (R35-95, de la empresa BD #554687) no mostró una inhibición de la proliferación celular (datos no mostrados).

10 EV1018 y EV1019 tienen una excelente actividad neutralizante de GM-CSF recombinante humano. EV1018 excede la capacidad neutralizante de BVD2-23B6.

La cadena pesada de EV1018 contiene naturalmente un sitio de N-glicosilación dentro del marco 3. Esto se muestra, por ejemplo, en la SEQ ID NO: 10, correspondiente a los residuos 95-97. En consecuencia, se generaron variantes de la cadena pesada de EV1018 y se examinaron respecto de su actividad neutralizante. Tal como se provee en la Tabla 9, el resultado indica que la bioactividad de EV1018 se mantiene después de la eliminación del sitio de glicosilación ligado a N en el marco 3 de la cadena pesada. La Tabla 9 muestra valores de IC50 para dos de las variantes de secuencias de sitios de glicosilación (EV 1018 variantes 1 y 2), diseñadas como N95K y T97A, respectivamente, en comparación con la cadena pesada de EV1018 de tipo salvaje que contiene el sitio de N-glicosilación. Los valores de IC50 para cada una de las IgG purificadas se determinaron en el ensayo de TF-1 esencialmente tal como se describió. Los experimentos con otras variantes de EV1018 dieron similares resultados comparables con aquellos de EV1018.

15 20 Tabla 9. Comparación de IC50 en el ensayo de proliferación de TF-1. Los resultados se dan en ng/ml y en pM (asumiendo un peso molecular de 150 kDa para los anticuerpos).

Anticuerpo	IC50 contra hGM-CSF	IC50 contra rhesus
		GM-CSF
EV1018	2,3 ng/ml	1,7 ng/ml
SEQ ID NO: 34 de cadena liviana	15 pM	11 pM
SEQ ID NO: 10 de cadena pesada		
EV1019	5,7 ng/ml	2,8 ng/ml
SEQ ID NO: 202 de cadena liviana	38 pM	19 pM
SEQ ID NO: 160 de cadena pesada		
EV 1003	71,1 ng/ml	6,6 ng/ml
SEQ ID NO: 321 de cadena liviana	474 pM	44 pM
SEQ ID NO: 320 de cadena pesada		

Anticuerpo	IC50 contra hGM-CSF	IC50 contra rhesus
		GM-CSF
BVD2-23B6	5,3 ng/ml	38 ng/ml
	35 pM	253 pM
EV 1018 variante 1 de cadena liviana	32 pM	
SEQ ID NO: 35		
SEQ ID NO: 11 de cadena pesada		
EV1018 variante 2	33,3 pM	
SEQ ID NO: 35 de cadena liviana		
SEQ ID NO: 16 de cadena pesada		

En experimentos usando anticuerpos monoclonales GM-CSF recombinantes de rhesus EV1018, EV1019 y EV1003 tienen una actividad neutralizante mucho mayor que BVD2-23B6 derivado de rata. Sin embargo, en ambos tipos de experimentos, EV1018 es significativamente superior respecto de todos los anticuerpos ensayados. Todas las variantes de EV1018 neutralizan igualmente la actividad del EV1018 de tipo salvaje.

En el experimento establecido que dio los resultados mostrados en la Tabla 9, el uso de IgG2a de GM-CSF anti-humano de rata asequibles en comercios BVD2-21C11 (empresa BD, #554503) no es posible, dado que, en las concentraciones de ED80 dadas, es decir, una dosis de 1,5 ng/ml de rGM-CSF, no se pueden obtener resultados confiables. Para medir el anticuerpo 21C11, se necesitan menores dosis de rGM-CSF tal como se indica en la Tabla 10 de abajo.

10 La comparación de la eficacia de anticuerpos en diferentes laboratorios no es posible comparando simplemente valores de IC50, porque los valores de IC50 son muy dependientes de las condiciones de ensayo, como, por ejemplo, la cantidad estímulo utilizado. Una comparación mucho más confiable es posible al comparar la relación de, por ejemplo, valores de IC50, obtenidos en el ensayo de TF-1 tal como se describió con anterioridad pero con diferentes dosis de rGM-CSF a las indicadas, entre un anticuerpo estándar y el anticuerpo de interés. Por ejemplo, el documento WO 2006/122797 (Tabla 8 páginas 56 y 57) reveló que su mejor anticuerpo era 35 veces mejor que el anticuerpo de rata-anti-humano-GM-CSF asequible en comercios, clon BVD2-21C11. La relación entre las IC50 entre anticuerpo monoclonal anti-humano-GM-CSF asequible en comercios, clon BVD2-21C11 y EV1018 es 413. En consecuencia, en base a la comparación con un estándar comercial, la actividad neutralizante de EV 1018 es aproximadamente diez veces más alta que la indicada en la Tabla 10. Esto es sorprendente ya que el documento WO 2006/122797 enseña que los expertos en la técnica que la actividad neutralizante de un anticuerpo monoclonal anti-GM-CSF se correlaciona mucho con su afinidad de unión por GM-CSF (documento WO 2006/122797, afinidad de unión mejorada mostrada en la tabla 4 en la página 50 se correlaciona con la potencia neutralizante mejorada concordantemente mostrada en las tablas 6 y 7 en las páginas 52-54).

25 Al comparar la afinidad de unión de MOR04357 (documento WO 2006/122797, tabla 4, página 50: afinidad de unión es 7 pM para MOR04357-Fab) con la afinidad de unión de EV1018, nos dimos cuenta de que EV1018 se une aproximadamente 16 veces menos con GM-CSF que MOR04357. Sin embargo, la actividad neutralizante de EV1018 es 10 veces mayor, en comparación con MOR04357, lo que indica que la actividad neutralizante no necesariamente se correlaciona con la afinidad de unión por GM-CSF.

Tabla 10. Actividades de neutralización relativa en el ensayo de TF-1 de EV1018 y un anticuerpo de la técnica anterior.

30 Líneas 1 y 2: datos del documento WO 2006/122797, tabla 8 páginas 56 y 57, líneas 3 y 4: datos propios.

		Ensayo de TF-1 hGM-CSF (<i>E. coli</i>) [pM]	Condición de ensayo de GM-CSF concentración final	Relación: anticuerpo de referencia a anticuerpo de interés
1	Referencia ab BVD2-21C11	1668	0,25 ng/ml	
2	MOR04357(IgG1)	48	0,25 ng/ml	35
3	Referencia ab BVD2-21C11 (Fa. BD, #554503)	8260	1,0 ng/ml	
4	EV1018	20	1,0 ng/ml	413

Ensayo de secreción de IL-8 en células U937 (GM-CSF de humano y rhesus)

5 IL-8 es una citoquina proinflamatoria. Es un factor crucial para la inflamación neutrofílica y está implicada en la mayoría de las reacciones inflamatorias. Las células objeto de la actividad de GM-CSF son células del linaje de células mieloides. La línea celular premonocítica U937 es de origen mieloide y secreta la citoquina proinflamatoria IL-8 después de la estimulación con GM-CSF.

10 Se cultivan U937 (ATCC: CRL-1593.2) en medio de cultivo celular (RPMI 1640 (Cat.3 1870 de la empresa Gibco), 1X Glutamax 100x (Cat. 35050-038 de la empresa Gibco), 10% de FCS (Cat. 10500-064 de la empresa Gibco), 1% de PenStrep). Se siembran 100 μ l de suspensión celular a 1E5 células/ml y 10 μ l de solución de anticuerpo y se añaden 10 μ l de solución de GM-CSF. Las células se incuban durante 24 horas a 37 °C y 5% de CO₂ en una cámara humidificada. Se determinan los niveles de citoquina IL-8 usando el OptEIA Human IL-8 Elisa Set (empresa BD Bioscience, Cat. N.º 555244).

15 El control negativo son células U937 cultivadas en medio de cultivo celular sin adición de anticuerpo y sin adición de GM-CSF y el control positivo son células U937 cultivadas en medio de cultivo celular con rGM-CSF en ED80 sin adición de solución de anticuerpo. Se determinó la concentración de ED80 para GM-CSF de humano y rhesus (Tabla 9) y esta concentración se usa para determinar las IC50 para los diferentes anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales (Tabla 11).

Tabla 11. Determinación de ED80 en la secreción de IL-8 en U937

GM-CSF	ED80
Humano (derivado de <i>E. coli</i> , de la empresa Biomol #2514)	1,2 ng/ml
Rhesus (derivado de células HEK, dentro de la empresa)	5,0 ng/ml

20 Tabla 12. Comparación de IC50 en ensayo de secreción de U937 de IL-8. Los resultados se indican en ng/ml y en pM (asumiendo un peso molecular de 150 kDa para los anticuerpos).

Anticuerpo	IC50 contra hGM-CSF	IC50 contra rhesus GM-CSF
EV1018	0,9 ng/ml	0,8 ng/ml
	6 pM	5,6 pM
EV1019	4,7 ng/ml	2,4 ng/ml
	31,3 pM	16 pM
EV1003	14,6 ng/ml	1,7 ng/ml

Anticuerpo	IC50 contra hGM-CSF	IC50 contra rhesus GM-CSF
	97,3 pM	11,5 pM
BVD2-23B6	3,5 ng/ml	45 ng/ml
	23,3 pM	300 pM

En este ensayo celular, los tres anticuerpos neutralizaron muy eficientemente el GM-CSF humano, así como GM-CSF de rhesus. EV1018 tiene una actividad neutralizante mayor que EV1019 y una capacidad neutralizante mucho mayor que EV1003. Todas las variantes de EV 1018 exhiben una actividad neutralizante igual a la de EV1018 de tipo salvaje.

5 *Ejemplo 13. Inducción de CD11b/Mac1 de superficie*

Los granulocitos son una subpoblación de células de linaje mieloide y son células objeto de actividad biológica de GM-CSF. Además de otras funciones efectoras, GM-CSF induce la molécula de adhesión CD 11b/Mac 1 sobre la superficie de los granulocitos. La inducción de CD11b/Mac1 sobre la superficie de las células del linaje de células mieloídes es una etapa esencial de la migración celular de la sangre periférica a tejido inflamado. Los pacientes con enfermedad crónica de las vías aéreas como EPOC y asma tienen cantidades elevadas de granulocitos en el esputo y el fluido de lavado broncoalveolar. En consecuencia, la eficacia de anticuerpos anti-GM-CSF se ensayó en la inducción mediada por GM-CSF del marcador de adhesión CD11b/Mac1 en granulocitos primarios.

10 Se incuban 80 μ l de sangre periférica que inhibe la coagulación de donantes sanos durante 15 min a 37 °C con anticuerpos monoclonales anti-GM-CSF o anticuerpo de isotipo (IgG humana, # I-2511; de la empresa Sigma-Aldrich) (control positivo) preincubado durante 20 min con rhGM-CSF (30 pM de concentración final) (empresa Biomol, #2514). El control negativo es la incubación de la sangre con coagulación inhibida durante 15 min a 37 °C con anticuerpo de isotipo preincubado con PBS, 01% de BSA durante 20 min.

15 Para la cuantificación de la expresión de CD11b/Mac1, se usa anticuerpo anti-CD 11b rotulado con ficoeritrina (empresa: Pharmingen; Cat: 333142) de acuerdo con instrucciones del proveedor. Brevemente, se añaden 20 μ l de la solución de anticuerpo anti-CD11b a las células, se incuba durante 30 min a temperatura ambiente en la oscuridad. Se lisán los eritrocitos (glóbulos rojos) añadiendo 2 ml de solución de lisis (empresa: BD; Cat 349202) y se incuban durante 20 10 min más a temperatura ambiente en la oscuridad. Después de dos etapas de lavado con PBS, se suspenden 0,1% de BSA, glóbulos blancos en 500 μ l de Cellfix (empresa: BD; Cat 340181). Para el análisis, se usa un citómetro de flujo LSRII y software DIVA6.1.1 para analizar los datos de FACS (ambos de la empresa BD). La población de granulocitos 25 se regula en un gráfico de puntos usando dispersión frontal y lateral y se fijó en el 100%. Se usan 30 pM de rhGM-CSF para estimular CD 11b/Mac1 sobre la superficie de los granulocitos. 67 pM de EV 1018 son suficientes para bloquear completamente CD 11b/Mac1 inducido por GM-CSF.

Estos datos indican que EV 1018 neutraliza eficazmente la actividad biológica de GM-CSF en un contexto muy significativo para los procesos inflamatorios que incluyen mayores cantidades de granulocitos, como EPOC y asma.

30 *Ejemplo 14. Inflamación pulmonar después de exposición a humo de cigarrillo en ratones C57BL/6J*

El humo del cigarrillo es el factor más crucial para desarrollar EPOC. La exposición a largo plazo al humo de cigarrillo en especies animales como ratas y ratones causa muchas lesiones anatómicas patofisiológicamente relevantes en comparación con la enfermedad humana (Fujita y Nakanishi 2007). Un parámetro importante de EPOC es la bronquitis crónica que incluye mayores cantidades de neutrófilos y macrófagos en el pulmón. Para probar que GM-CSF 35 desempeña un papel crucial para el influjo celular inducido por el humo en el pulmón, se usaron anticuerpos anti-GM-CSF monoclonales en un modelo de ratón de humo de cigarrillo a largo plazo.

Los ratones (cepa C57BL/6J, 18-23 g) se expusieron a humo de cigarrillo durante 4 días. Los ratones se expusieron a 6 cigarrillos el día 1 y 2, a 8 cigarrillos el día 3 y a 10 cigarrillos el día 4. La exposición de cada cigarrillo duró 16 min 40 seguido de una exposición de 8 min con aire fresco. Después de cada segundo cigarrillo, se realizó una pausa adicional de 24 min con exposición al aire libre. Los ratones sin exposición a humo de cigarrillo sirvieron como un control negativo.

45 IgG2a de GM-CSF de antirratón de rata, 300 μ g (clon MPI-22E9, de la empresa eBioSciences, #16-7331) o anticuerpo de isotipo humano, 300 μ g (IgG2a de rata, de la empresa eBioSciences, # 16-4321) o vehículo 300 μ l (PBS, 10 mM de NaCl) se administraron por vía intraperitoneal (i.p.) 2 horas antes del protocolo de humo el día 1 y el día 3. 18 h después de la última exposición, los animales se eutanizaron y los pulmones de lavaron con 2 x 0,8 ml de solución de Hanks con EDTA. El líquido de lavado broncoalveolar (BALF) se separó por centrifugación en pellet celular y sobrenadante. La

actividad de mieloperoxidasa (MPO) en el pellet se determinó como un parámetro para el influjo de células mieloides. 500 μ l de las muestras del líquido de lavado se centrifugaron a 485 x g, 4 °C durante 10 min. El pellet se resuspendió en 200 μ l de bromuro de hexadecil-trimetil-amonio (HTAB) al 0,5%. Se transfirieron 50 μ l de las suspensiones a una placa de microtitulación de 96 cavidades. Se añadieron 250 μ l de solución de sustrato (50 mM de KH_2PO_4 , 5 mM de Na_2HPO_4 , 0,2 mg/ml de diclorhidrato de o-dianisidina, 0,2 μ l/ml de H_2O_2) a cada cavidad para iniciar la reacción enzimática. La extinción a 450 nm se determinó durante 90 seg. La actividad de mieloperoxidasa (MPO) se calculó durante el estado estable de la reacción enzimática. La actividad se da como unidades de miliactividad por min (mAU/min).

Las citoquinas MCP-1 y MIP-1 α se determinaron en los sobrenadantes de BALF por detección de múltiples analitos en un citómetro de flujo (LSR II, Becton Dickinson). El ensayo se llevó a cabo de acuerdo con instrucciones de Bender MedSystems (Flow Cytomix). Brevemente, se mezclaron 25 μ l de sobrenadante BALF con 25 μ l 1x de tampón de ensayo (Kit básico BMS8440FF), 25 μ l de mezcla en perlas (mezcla de MCP-1 y MIP-1a Simplex Kits, BMS86005FF, BMS86013FF) y 50 μ l de mezcla conjugada de biotina (incluida en Simplex Kits) y se incubaron durante 2 horas a temperatura ambiente en un agitador de microplacas a 500 rpm. Después de 2 veces de lavar con tampón de ensayo, las perlas se resolvieron en 100 μ l de tampón de ensayo y 50 μ l de solución de estreptavidina-PE (incluido en el Kit básico). Las perlas se incubaron durante 1 hora a temperatura ambiente en un agitador de microplacas a 500 rpm. Las perlas se lavaron con tampón de ensayo dos veces. Las perlas se resolvieron en 500 μ l de tampón de ensayo y se analizaron por citometría de flujo usando el software FlowCytomix Pro 2.2 proporcionado por Bender MedSystems. Para cuantificar, se preparó una dilución serial de un estándar (incluido en Simplex Kits) de acuerdo con las instrucciones del proveedor (Bender MedSystems). Se determinaron las concentraciones de citoquina en base a los estándares.

20 Despues del pretratamiento de los ratones con anticuerpo anti-GM-CSF, se redujo la actividad de MPO aproximadamente un 25% (FIG. 9A). Siendo consistentes con este resultado, las citoquinas MCP-1 y MIP-1a se redujeron aproximadamente un 18% y un 23%, respectivamente (FIG. 9B).

25 Los resultados mostrados en las FIG. 9A y FIG. 9B demuestran que GM-CSF desempeña un papel pivotal en la inflamación inducida por el humo de cigarrillo y esa neutralización de GM-CSF puede reducir significativamente la infiltración celular y las citoquinas inflamatorias inducidas por exposición a largo plazo a humo de cigarrillo en ratones.

Ejemplo 15. Mapeo de epitopos hGM-CSF.

Se ensayaron grupos de péptidos que contenían péptidos de GM-CSF de ratón, humanos, rhesus y mono tití para ver si las secuencias lineales particulares en GM-CSF podían ser identificadas como el epitopo reconocido por los anticuerpos en cuestión.

30 Los siguientes anticuerpos fueron ensayados: BIBH1 (un anticuerpo de control negativo de IgG1 humanizado irrelevante que reconoce FAP (ver el documento US 20030103968 Uso de anticuerpo específico FAP alfa BIBH1 en el tratamiento de cáncer (http://www.asco.org/ASCO/Abstracts+&+Virtual+Meeting/Abstracts?&vmview=abst_detail_view&confID=10&abstractID=1028), EV1018, EV1019 y EV1003.

35 Los resultados de grupos de péptidos indicaban que no se observó ninguna unión específica por encima de los niveles con el anticuerpo de control negativo, mientras que controles positivos de GM-CSF e IgG humana dieron robustas señales. Si bien se reconoce GM-CSF apropiadamente plegado pero ninguno de los péptidos derivados de GM-CSF, concluimos que los anticuerpos anti-GM-CSF ensayados reconocen un epitopo no lineal o específico de la conformación. Esto se contrapone a varios otros anticuerpos anti-GM-CSF conocidos en la bibliografía (por ejemplo, el documento WO 2007/092939).

40 Se empleó el siguiente método:

Se sintetizaron matrices habituales y se imprimieron en portaobjetos de vidrio en JPT (Berlín, Alemania). Los grupos se bloquearon con PBS + 1% de BSA + 0,1% de Tween 20 durante 3 h a temperatura ambiente con moderada agitación. Los anticuerpos se diluyeron a 5 μ g/ml en tampón de sondeo (PBS, 5 mM de MgCl_2 , 0,5 mM de DTT, 0,05% de Triton X-100, 5% de glicerol, 1% de BSA) y se incubaron en las matrices a 4 °C durante 1 - 2 horas. Las matrices se lavaron luego con tampón de sondeo tres veces (1 minuto en hielo cada lavado) y luego se incubaron con IgG antihumana de cabra rotulada con Cy5 (0,5 μ g/ml) durante 1 hora a 4 °C. Se lavaron nuevamente como antes, se secaron por centrifugación (800 x g) y se exploraron en un escáner Perkin-Elmer Proscan a PMT constante con el juego de filtros Cy5.

50 El mapeo de epitopos por medio de reemplazo ortólogo también se realizó. Como los anticuerpos ensayados reconocen un epitopo conformacional o discontinuo, se puede determinar sólo el respectivo epitopo en el contexto de GM-CSF apropiadamente plegado. Como se muestra en los resultados de Biacore descritos con anterioridad, los anticuerpos en cuestión se unen sólo débilmente, de unirse, con GM-CSF de ratón. En consecuencia, diseñamos versiones químéricas de GM-CSF en las que las regiones seleccionadas de GM-CSF humano fueron reemplazadas por la correspondiente secuencia murina. Como GM-CSF de humano y de ratón poseen presumiblemente estructuras tridimensionales similares pero sólo un 73% de identidad, las proteínas químéricas han de retener el pliegue apropiado de GM-CSF, en

oposición a los métodos de barrido de la alanina (reemplazo con tramos de polialanina), que pueden afectar el plegado de la proteína. Las quimeras en las que el epitopo o sus partes están reemplazados con secuencias murinas no se deben seguir uniendo con el anticuerpo en cuestión (o mostrar una unión reducida). El mapeo de las secuencias de regreso a la estructura tridimensional conocida de GM-CSF humano permite reconstruir la ubicación espacial de los 5 aminoácidos que comprenden el epitopo. Los aminoácidos que se conservan entre GM-CSF humano y murino no se pueden analizar con este método.

Se diseñaron once diferentes quimeras en las que siete secuencias peptídicas lineales se reemplazaron de forma individual y en combinación. Para cada quimera, los aminoácidos de GM-CSF murino se indican en negrita. Los sitios de 10 glicosilación ligados a N pronosticados que difieren entre las quimeras están subrayados. Cada quimera se expresó en células HEK 293 como una proteína de fusión Fc de conejo para permitir la purificación y la cuantificación por medio de la porción Fc de conejo. Un Western blot de control con las proteínas de fusión usando un anticuerpo contra Fc de conejo muestra que idénticas cantidades de las diversas proteínas de fusión quiméricas de GM-CSF se habían cargado en los geles. Los desplazamientos de movilidad entre las diferentes quimeras se deben a diferencias en la glicosilación entre GM-CSF de humano y ratón.

15 Un Western blot de las quimeras de GM-CSF con EV 1003 muestra que las quimeras 3, 6, 9 y 10 muestran una leve o ninguna unión. La quimera 9 es una combinación de quimeras 3 y 6 mientras que la quimera 10 es una combinación de quimeras 2 y 6. En consecuencia, todas las quimeras que contienen aminoácidos murinos en aquellas posiciones representadas por quimeras 3 y 6 o combinaciones que contienen una o las dos de estas regiones ya no son reconocidas por EV1003. Estas representan, por ello, el epitopo EV1003. El mapeo espacial de quimeras 3 y 6 en la 20 estructura cristalina tridimensional de GM-CSF muestra que estas quimeras están adyacentes entre sí en una cara de la molécula de GM-CSF, en excelente acuerdo con estos hallazgos. Esta superficie representa el epitopo discontinuo reconocido por EV1003.

Un Western blot de las quimeras de GM-CSF con EV1019 muestra que las quimeras 4, 5 y 11 muestran una unión débil 25 mientras que la quimera 8 no muestra casi ninguna unión. La quimera 11 es una combinación de quimeras 1 y 5 mientras que la quimera 8 es una combinación de quimeras 4 y 5. En consecuencia, todas las quimeras que contienen aminoácidos de ratón en aquellas posiciones representadas por quimeras 4 ó 5 muestran una débil unión con EV1019. La quimera 8, que contiene la combinación de aminoácidos murinos en aquellas posiciones representadas por las 30 quimeras 4 y 5 ya no es más reconocida por EV1019. En consecuencia, la combinación de quimeras 4 y 5 representan el epitopo EV1019. El mapeo espacial de las quimeras 4 y 5 en la estructura cristalina tridimensional de GM-CSF muestra que estas quimeras están adyacentes entre sí en una cara de la molécula de GM-CSF, en excelente acuerdo 35 con estos hallazgos. Esta superficie representa el epitopo discontinuo reconocido por EV1019. Como ambas regiones son necesarias para una unión de alta afinidad de EV1019, el epitopo discontinuo se debe comprender de los aminoácidos de las variantes 4 y 5 que están en cercana proximidad entre sí y en o cerca de la superficie (y, por ello, afectan los residuos de aminoácidos expuestos en la superficie) de GM-CSF. Son los aminoácidos 60 - 63 (ELYK) y 78 - 87 (TMMASHYKQH) (SEQ ID NO: 3), respectivamente. Una contribución del aminoácido 76 (P) puede ser posible. Es improbable que los aminoácidos 68 - 69 (SL) en la quimera 4 desempeñen un papel significativo en el epitopo de unión 40 debido a la gran distancia de la interface entre las quimeras 4 y 5 implicadas, sin embargo, esto no puede ser excluido por completo.

Un Western blot de las quimeras de GM-CSF con EV1018 muestra que las quimeras 4, 5 y 11 muestran una unión débil 45 mientras que la quimera 8 no muestra casi una unión. La quimera 11 es una combinación de quimeras 1 y 5 mientras que la quimera 8 es una combinación de quimeras 4 y 5. En consecuencia, todas las quimeras que contienen aminoácidos de ratón en aquellas posiciones representadas por quimeras 4 ó 5 muestran una unión débil con EV 1018. La quimera 8, que contiene la combinación de aminoácidos de ratón en aquellas posiciones representadas por quimeras 50 4 y 5 ya no es reconocida por EV1018. En consecuencia, la combinación de quimeras 4 y 5 representan el epitopo EV1018. El mapeo espacial de las quimeras 4 y 5 en la estructura cristalina tridimensional de GM-CSF muestran que estas quimeras están adyacentes entre sí en una cara de la molécula de GM-CSF, en excelente acuerdo con estos hallazgos. Esta superficie representa el epitopo discontinuo reconocido por EV1018. Como ambas regiones son necesarias para una unión de gran afinidad de EV 1018, el epitopo discontinuo debe estar compuesto por los aminoácidos de las variantes 4 y 5 que están en cercana proximidad entre sí y en o cerca de la superficie (y, en consecuencia, afectan a los residuos de aminoácidos expuestos en la superficie) de GM-CSF. Son los aminoácidos "ELYK" y "TMMASHYKQH", respectivamente.

Estos resultados indican que EV1018 y EV1019 reconocen el mismo epitopo discontinuo de la molécula de GM-CSF, mientras que EV1003 reconoce un epitopo de la molécula de GM-CSF que es distinta del epitopo reconocido por EV 1018 y EV1019.

LISTADO DE SECUECIAS

hGM-CSF de longitud total

MWLQSLLLLGTVACSIAPARSPSPSTQPWEHVNAIQEARRLNLNSRDTAAEMNETVEVISEMFDLQE
PTCLQTRLELYKQGLRGSLTKLKGPLTMMASHYKQHCPPTPETSCATQIITFESFKENLKDFLLVIPF
DCWEPVQE

(SEQ ID NO: 1)

Epitopo discontinuo para EV1018 & EV1019

5 >Residuos 77-80

ELYK

(SEQ ID NO: 2)

Residuos 95-104

TMMASHYKQH

10 (SEQ ID NO: 3) EV1018 CDRs

>EV1018 HC CDR1

SYGMH

(SEQ ID NO: 4)

>EV1018 HC CDR2

15 LTYHHGNRKFYADSVRG

(SEQ ID NO: 5)

>EV1018 HC CDR3

ESMGAINDN

(SEQ ID NO:6)

20 >EV1018 LC CDR1

IGNNNNIGSHAVG

(SEQ ID NO: 7)

>EV1018 LC CDR2

GRSPPS

25 (SEQ ID NO: 8)

>EV1018 LC CDR3

STWDSSLSAVV

(SEQ ID NO: 9) EV1018 cadenas pesadas sin secuencia señal

>EV1018

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 10)

>EV1018-wt IgG1KO

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN

HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

5 (SEQ ID NO: 11)

>EV1018-T97A IgG1KO

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 12)

>EV1018-T97V IgG1KO

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 13)

>EV1018-N95D IgG1KO

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 14)

>EV1018-N95E IgG1KO

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 15)

>EV1018-N95K IgG1KO

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

5

(SEQ ID NO: 16)

>EV1018-N95Q IgG1KO

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 17)

>EV1018-N93Q-N95T IgG1KO

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDQNTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 18)

>EV1018-wt IgG1-BI

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

5

(SEQ ID NO: 19)

>EV1018-T97A IgG1-BI

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 20)

>EV1018-T97V IgG1-BI

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 21)

>EV1018-N95D IgG1-BI

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP

10

EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 22)

>EV1018-N95E IgG1-BI

QVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 23)

5

>EV1018-N95K IgG1-BI

QVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 24)

>EV1018-N95Q IgG1-BI

QVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 25)

>EV1018-N93Q-N95T IgG1-BI

QVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF

10

TISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 26)

>EV1018-T97A IgG1 original constante

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 27)

>EV1018-T97V IgG1 original constante

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 28)

>EV1018-N95D IgG1 original constante

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 29)

>EV1018-N95E IgG1 original constante

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPREVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 30)

>EV1018-N95K IgG1 original constante

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPREVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 31)

>EV1018-N95Q IgG1 original constante

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPREVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 32)

>EV1018-N93Q-N95T IgG1 original constante

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPREVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA

KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 33)

10

EV1018 cadenas livianas sin secuencia señal

>EV1018-wt-original

QSALTQETSVSGTVGQKVTLSCIGNNNNIGSHAVGWYQQISRGAPKMVLGRSPSGVPDRFSGSKSG
TTASLIISGLQPEDEADYYCSTWDSSLASAVVFGGGTKLTVLRQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 34)

>EV1018-wt-BI

QSALTQETSVSGTVGQKVTLSCIGNNNNIGSHAVGWYQQISRGAPKMVLGRSPSGVPDRFSGSKSG
TTASLIISGLQPEDEADYYCSTWDSSLASAVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKGDSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 35)

>EV1018-wt-BI-G1

QSALTQETSVSGTVGQKVTLSCIGNNNNIGSHAVGWYQQISRGAPKMVLGRSPSGVPDRFSGSKSG
TTASLIISGLQPEDEADYYCSTWDSSLASAVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

5

(SEQ ID NO: 36)

>EV1018-wt original constante

QSALTQETSVSGTVGQKVTLSCIGNNNNIGSHAVGWYQQISRGAPKMVLGRSPSGVPDRFSGSKSG
TTASLIISGLQPEDEADYYCSTWDSSLASAVVFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 37)

EV1018 cadenas pesadas sin secuencia señal

>EV1018-wt-IgG1-KO-QVQL

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNNSNTLYLQMDSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDKTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

(SEQ ID NO: 38)

>EV1018-T97A-IgG1-KO-QVQL

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNALYLOMITSRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDVFPEPVTVWSNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 39)

>EV1018-T97V-IgG1-KO-QVQL

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNVLYLOMITSRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDVFPEPVTVWSNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 40)

>EV1018-N95D-IgG1-KO-QVQL

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSDNTLYLOMITSRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDVFPEPVTVWSNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

5

(SEQ ID NO: 41)

>EV1018-N95E IgG1-KO-QVQL

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSENTLYLOMITSRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDVFPEPVTVWSNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDTLMSRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 42)

>EV1018-N95K IgG1-KO-QVQL

10

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSQLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 43)

>EV1018-N95Q IgG1-KO-QVQL

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSQLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 44)

>EV1018-N93Q-N95T IgG1-KO-QVQL

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSQLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP

5

EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 45)

>EV1018-wt IgG1-QVQL-BI

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSQLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 46)

>EV1018-T97A IgG1-QVQL-BI

10

5
QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
· TISRDNSNNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 47)

>EV1018-T97V IgG1-QVQL-BI

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 48)

>EV1018-N95D IgG1-QVQL-BI

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 49)

>EV1018-N95E IgG1-QVQL-BI

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 50)

>EV1018-N95K IgG1-QVQL-BI

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKSTSGGTAALGCLVKDVFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 51)

>EV1018-N95Q IgG1-QVQL-BI

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKSTSGGTAALGCLVKDVFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

5

(SEQ ID NO: 52)

>EV1018-N93Q-N95T IgG1-QVQL-BI

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKSTSGGTAALGCLVKDVFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 53)

>EV1018-IgG2

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDVFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 54)

>EV1018-wt-IgG2

10

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSNFGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHODWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 55)

>EV1018-T97A-IgG2

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNALYLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSNFGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF

NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHODWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

5

(SEQ ID NO: 56)

>EV1018-T97V-IgG2

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSNFGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHODWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 57)

>EV1018-N95D-IgG2

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSNFGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHODWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 58)

>EV1018-N95E-IgG2

10

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPGPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVHWDLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPMULDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 59)

>EV1018-N95K-IgG2

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPGPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVHWDLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPMULDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 60)

>EV1018-N95Q-IgG2

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPGPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVHWDLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPMULDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 61)

>EV1018-N93Q-N95T-IgG2

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPGPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVHWDLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPMULDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 62)

>EV1018-IgG4

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 63)

>EV1018-wt-IgG4

QVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

5

(SEQ ID NO: 64)

>EV1018-T97A-IgG4

QVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 65)

>EV1018-T97V-IgG4

QVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 66)

>EV1018-N95D-IgG4

10

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ

FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 67)

>EV1018-N95E-IgG4

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

5

(SEQ ID NO: 68)

>EV1018-N95K-IgG4

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 69)

>EV1018-N95Q-IgG4

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 70)

>EV1018-N93Q-N95T-IgG4

10

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFT
TISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDVFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 71)

>EV1018-IgG4-SP

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFT
TISRDNSNNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDVFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 72)

>EV1018-wt-IgG4-SP

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFT
TISRDNSNNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDVFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 73)

>EV1018-T97A-IgG4-SP

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFT
TISRDNSNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDVFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 74)

10

>EV1018-T97V-IgG4-SP

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 75)

>EV1018-N95D-IgG4-SP

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 76)

>EV1018-N95E-IgG4-SP

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 77)

>EV1018-N95K-IgG4-SP

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ

FNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 78)

>EV1018-N95Q-IgG4-SP

QVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFT
TISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSSVTPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 79)

>EV1018-N93Q-N95T-IgG4-SP

QVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRFT
TISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSSVTPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 80)

EV1018 cadenas pesadas con secuencia señal

5

>EV1018

MEFGLIWVFLVTLLRGVQCQVLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 81)

>EV1018-wt-IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 82)

>EV101B-T97A-IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVGRFTI SRDNNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 83)

>EV1018-T97V-IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVGRFTI SRDNNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 84)

>EV1018-N95D-IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVGRFTI SRDNDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK

5

CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 85)

>EV1018-N95E IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVGRFTI SRDNEENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 86)

>EV1018-N95K IgG1KO

10

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDTL
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 87)

>EV1018-N95Q IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDTL
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 88)

>EV1018-N93Q-N95T IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS

5

SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDTL
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 89)

>EV1018-wt IgG1-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTL
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 90)

>EV1018-T97A IgG1-BI

10

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 91)

>EV1018-T97V IgG1-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 92)

>EV1018-N95D IgG1-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 93)

>EV1018-N95E IgG1-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 94)

>EV1018-N95K IgG1-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 95)

>EV1018-N95Q IgG1-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK

CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 96)

>EV1018-N93Q-N95T IgG1-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 97)

>EV1018-T97A IgG1 original constante

MGWSCIILFLVATATGVHSQVLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 98)

>EV1018-T97V IgG1 original constante

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 99)

>EV1018-N95D IgG1 original constante

SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

5 (SEQ ID NO: 100)

>EV1018-N95E IgG1 original constante

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 101)

>EV1018-N95K IgG1 original constante

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 102)

>EV1018-N95Q IgG1 original constante

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNKHPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 103)

>EV1018-N93Q-N95T IgG1 original constante

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNKHPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 104)

EV1018 cadenas livianas con secuencia señal

5

>EV1018-wt-original

MAWTPLLLQLLTLCSGSWAQSLTQETSVSGTVGQKVTLSCIGNNNNIGSHAVGWYQQISRGAPKMVL
 FGRSPPSGVPDRFSGSKSGTTASLIISGLQPEDEADYYCSTWDSSLSAVVFGGGTKLTVLRQPKAAPS
 VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
 EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 105)

>EV1018-wt-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQSLTQETSVSGTVGQKVTLSCIGNNNNIGSHAVGWYQQISRGAPKMVL
 FGRSPPSGVPDRFSGSKSGTTASLIISGLQPEDEADYYCSTWDSSLSAVVFGGGTKLTVLGQPKAAPS
 VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
 EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 106)

>EV1018-wt-BI2 (G1)

MGWSCIILFLVATATGVHSQSLTQETSVSGTVGQKVTLSCIGNNNNIGSHAVGWYQQISRGAPKMVL
 FGRSPPSGVPDRFSGSKSGTTASLIISGLQPEDEADYYCSTWDSSLSAVVFGGGTKLTVLGQPKAAPS
 VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
 EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

10

(SEQ ID NO: 107)

>EV1018-wt original constante

MGWSCIILFLVATATGVHSQSLTQETSVSGTVGQKVTLSCIGNNNNIGSHAVGWYQQISRGAPKMVL
 FGRSPPSGVPDRFSGSKSGTTASLIISGLQPEDEADYYCSTWDSSLSAVVFGGGTKLTVLRQPKAAPS

VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 108)

EV1018 cadenas pesadas con secuencia señal

>EV1018-wt-IgG1-KO-QVQL

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGKRKFYADSVRGRFTISRDNSNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGGSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKNWyVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 109)

5

>EV1018-T97A-IgG1-KO-QVQL

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGKRKFYADSVRGRFTISRDNSNNALYLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGGSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKNWyVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 110)

>EV1018-T97V-IgG1-KO-QVQL

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGKRKFYADSVRGRFTISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGGSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKNWyVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 111)

>EV1018-N95D-IgG1-KO-QVQL

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGKRKFYADSVRGRFTISRDNSDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGGSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVFKNWyVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 112)

10

>EV1018-N95E IgG1-KO-QVQL

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGKRKFYADSVRGRFTISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDITLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 113)

>EV1018-N95K IgG1-KO-QVQL

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGKRKFYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDITLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 114)

>EV1018-N95Q IgG1-KO-QVQL

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGKRKFYADSVRGRFTISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDITLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 115)

>EV1018-N93Q-N95T IgG1-KO-QVQL

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGKRKFYADSVRGRFTISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDITLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 116)

>EV1018-wt IgG1-QVQL-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVGRFTI SRDNNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 117)

>EV1018-T97A IgG1-QVQL-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVGRFTI SRDNNNLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 118)

>EV1018-T97V IgG1-QVQL-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVGRFTI SRDNNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM

5

ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 119)

>EV1018-N95D IgG1-QVQL-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVGRFTI SRDNNSDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 120)

>EV1018-N95E IgG1-QVQL-BI

10

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPQREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 121)

>EV1018-N95K IgG1-QVQL-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPQREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 122)

>EV1018-N95Q IgG1-QVQL-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPQREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 123)

>EV1018-N93Q-N95T IgG1-QVQL-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
 LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPQREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 124)

>EV1018-IgG2

MEFGLIWVFLVTLLRGVQCQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPAPIEKTISKTGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPMULDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 125)

>EV1018-wt-IgG2

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPAPIEKTISKTGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPMULDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

5

(SEQ ID NO: 126)

>EV1018-T97A-IgG2

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPAPIEKTISKTGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPMULDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 127)

>EV1018-T97V-IgG2

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS
NKGLPAPIEKTISKTGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPMULDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 128)

>EV1018-N95D-IgG2

10

MGWSCI I LFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA

LTYHHGNRKFYADSVRGRFTI SRDN SDNT LYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAI NDNWGQGTLVIVS

SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS

VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPPKDTLMISRT

PEVTCVVVDVSHEDEPEVQFNWYVDGVEVHN

AKTKPREEQFNSTFRVSVLT

VVHQDWLNGKEYKCKVS

NKGLPAPIEKTISKTGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI

AVEWESNGQPENNYK

TPPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 129)

>EV1018-N95E-IgG2

MGWSCI I LFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA

LTYHHGNRKFYADSVRGRFTI SRDN SENT LYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAI NDNWGQGTLVIVS

SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS

VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPPKDTLMISRT

PEVTCVVVDVSHEDEPEVQFNWYVDGVEVHN

AKTKPREEQFNSTFRVSVLT

VVHQDWLNGKEYKCKVS

NKGLPAPIEKTISKTGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI

AVEWESNGQPENNYK

TPPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 130)

>EV1018-N95K-IgG2

MGWSCI I LFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA

LTYHHGNRKFYADSVRGRFTI SRDN SKNT LYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAI NDNWGQGTLVIVS

SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS

VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPPKDTLMISRT

PEVTCVVVDVSHEDEPEVQFNWYVDGVEVHN

AKTKPREEQFNSTFRVSVLT

VVHQDWLNGKEYKCKVS

NKGLPAPIEKTISKTGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI

AVEWESNGQPENNYK

TPPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 131)

>EV1018-N95Q-IgG2

MGWSCI I LFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA

LTYHHGNRKFYADSVRGRFTI SRDN QNT LYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAI NDNWGQGTLVIVS

SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS

VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPPKDTLMISRT

PEVTCVVVDVSHEDEPEVQFNWYVDGVEVHN

AKTKPREEQFNSTFRVSVLT

VVHQDWLNGKEYKCKVS

NKGLPAPIEKTISKTGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI

AVEWESNGQPENNYK

TPPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 132)

>EV1018-N93Q-N95T-IgG2

MGWSCI I LFLVATATGVHSQVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA

LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS

SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSS

VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPCCPAPPVAGPSVFLFPPPKDTLMISRT

PEVTCVVVDVSCHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVS

NKGLPAPIEKTI SKTGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK

TTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 133)

>EV1018-IgG4

MEFG LI WVFLVTLLRGVQCQVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA

LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS

SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSS

VVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDTLMISRT

TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV

SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY

KTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 134)

>EV1018-wt-IgG4

MGWSCI I LFLVATATGVHSQVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA

LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS

SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSS

VVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDTLMISRT

TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV

SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY

KTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 135)

>EV1018-T97A-IgG4

MGWSCI I LFLVATATGVHSQVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA

LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS

SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSS

VVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDTLMISRT

TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV

SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY

KTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 136)

>EV1018-T97V-IgG4

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNALKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 137)

>EV1018-N95D-IgG4

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNALKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

5

(SEQ ID NO: 138)

>EV1018-N95E-IgG4

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNALKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 139)

>EV1018-N95K-IgG4

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNALKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 140)

>EV1018-N95Q-IgG4

10

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR

TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 141)

>EV1018-N93Q-N95T-IgG4

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 142)

>EV1018-IgG4-SP

MEFGLIWVFLVTLLRGVQCQVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 143)

>EV1018-wt-IgG4-SP

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 144)

>EV1018-T97A-IgG4-SP

MGWSCI I LFLVATATGVHSQ VELVESGGMVQPGMPLRLSCV ASGFTFSSYGMHWVRQAPGK GLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 145)

>EV1018-T97V-IgG4-SP

MGWSCI I LFLVATATGVHSQ VELVESGGMVQPGMPLRLSCV ASGFTFSSYGMHWVRQAPGK GLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 146)

>EV1018-N95D-IgG4-SP

MGWSCI I LFLVATATGVHSQ VELVESGGMVQPGMPLRLSCV ASGFTFSSYGMHWVRQAPGK GLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 147)

>EV1018-N95E-IgG4-SP

MGWSCI I LFLVATATGVHSQ VELVESGGMVQPGMPLRLSCV ASGFTFSSYGMHWVRQAPGK GLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 148)

10

>EV1018-N95K-IgG4-SP

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 149)

>EV1018-N95Q-IgG4-SP

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 150)

>EV1018-N93Q-N95T-IgG4-SP

MGWSCIILFLVATATGVHSQVELVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVA
LTYHHGNRKFYADSVRGRFTISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 151)

EV1019 regiones variables de cadena pesada sin secuencia señal

>EV1019-V_H-wt

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVSS

5

(SEQ ID NO: 152)

>EV1019-V_H-C105G

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 153)

>EV1019-V_H-C105S

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 154)

>EV1019-V_H-C105A

QAQLVESGGVVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 155)

>EV1019-V_H-C105T

QAQLVESGGVVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 156)

5

>EV1019-V_H-C105M

QAQLVESGGVVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 157)

>EV1019-V_H-C105Q

QAQLVESGGVVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 158)

>EV1019-V_H-C105L

QAQLVESGGVVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVSS

10

(SEQ ID NO: 159)

EV1019 cadenas pesadas sin secuencia señal

>EV1019

QAQLVESGGVVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSPKG

(SEQ ID NO: 160)

>EV1019-wt-IgG1-B1

QAQLVESGGVVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVLFPPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTIKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSPKG

(SEQ ID NO: 161)

15

>EV1019-wt-IgG1KO

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
 SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
 SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
 EVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
 KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
 SKLTVDKSRWQQGVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 162)

>EV1019-C105G

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
 SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
 SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP

5

EVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
 KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
 SKLTVDKSRWQQGVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 163)

>EV1019-C105G-IgG1-BI

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
 SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
 SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
 EVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
 KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
 SKLTVDKSRWQQGVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 164)

>EV1019-C105G-IgG1KO

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
 SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
 SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
 EVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
 KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
 SKLTVDKSRWQQGVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

10

(SEQ ID NO: 165)

>EV1019-C105S

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTSDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 166)

>EV1019-C105S-IgG1-BI

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTSDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 167)

>EV1019-C105S-IgG1KO

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTSDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 168)

>EV1019-C105A

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTADSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPETCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 169)

>EV1019-C105A-IgG1-BI

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 170)

>EV1019-C105A-IgG1KO

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPKG

5

(SEQ ID NO: 171)

>EV1019-C105Q

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTQDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 172)

>EV1019-C105Q-IgG1-B1

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTQDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 173)

>EV1019-C105Q-IgG1KO

10

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDVFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP

EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 174)

>EV1019-C105T

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDVFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

5

(SEQ ID NO: 175)

>EV1019-C105T-IgG1-B1

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDVFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 176)

>EV1019-C105T-IgG1KO

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDVFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPVYTLPPSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 177)

>EV1019-C105M

10

QAQLVESGGVVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTMDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 178)

>EV1019-C105M-IgG1-BI

QAQLVESGGVVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTMDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 179)

>EV1019-C105M-IgG1KO

QAQLVESGGVVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTMDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 180)

>EV1019-C105L

QAQLVESGGVVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTMDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
SGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYICNVN
HKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
EVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
KGQPREPQVYTLPPSRDELTQNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLY
SKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPKG

(SEQ ID NO: 181)

>EV1019-C105L-IgG1-BI

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWRQAPGKGLEWAVIWHDGSKYYADSVKGRF
 SVSRDN SKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTLD SWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
 SGGAALGCLVKDYFPEPVTVWN SGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
 EVKFNWYV DGV EHVNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
 KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQ PENNYK TTPVLDSDGSFFLY
 SKLTV DKS RQ QGNV FSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 182)

>EV1019-C105L-IgG1KO

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWRQAPGKGLEWAVIWHDGSKYYADSVKGRF
 SVSRDN SKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTLD SWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPSSKST
 SGGAALGCLVKDYFPEPVTVWN SGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVN
 HKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGG PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDP
 EVKFNWYV DGV EHVNAKTKPREEQYNSTYRVVSLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKA
 KGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQ PENNYK TTPVLDSDGSFFLY
 SKLTV DKS RQ QGNV FSCS VMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 183)

EV1019 regiones variables de cadena liviana sin secuencia señal

5

>EV1019-V_L-wt

QPALTQEASVSGTVGQT VTL LCGN SSNIGSYAVGWYQQI SRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT VLR

(SEQ ID NO: 184)

>EV1019-V_L-BI

QPALTQEASVSGTVGQT VTL LCGN SSNIGSYAVGWYQQI SRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT VLG

(SEQ ID NO: 185)

>EV1019-V_L-N25S

QPALTQEASVSGTVGQT VTL LCGN SSNIGSYAVGWYQQI SRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT VLR

10

(SEQ ID NO: 186)

>EV1019-V_L-BI-N25S

QPALTQEASVSGTVGQT VTL LCGN SSNIGSYAVGWYQQI SRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT VLG

(SEQ ID NO: 187)

15

>EV1019-V_L-N25G

QPALTQEASVSGTVGQT VTL LCGN SSNIGSYAVGWYQQI SRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT VLR

(SEQ ID NO: 188)

>EV1019-V_L-BI-N25G
 QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGGSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLG
 (SEQ ID NO: 189)

>EV1019-V_L-N25T
 QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGTSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLR
 (SEQ ID NO: 190)

5 >EV1019-V_L-BI-N25T
 QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGTSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLG
 (SEQ ID NO: 191)

>EV1019-V_L-N25R
 QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGRSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLR
 (SEQ ID NO: 192)

>EV1019-V_L-BI-N25R
 QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGRSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLG
 (SEQ ID NO: 193)

10 >EV1019-V_L-N25Q
 QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGQSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLR
 (SEQ ID NO: 194)

>EV1019-V_L-BI-N25Q
 QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGQSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLG
 (SEQ ID NO: 195)

15 >EV1019-V_L-S27N
 QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLR
 (SEQ ID NO: 196)

>EV1019-V_L-BI-S27N
 QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
 TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLG
 (SEQ ID NO: 197)

>EV1019-V_L-S27G

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSGNIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLR

(SEQ ID NO: 198)

>EV1019-V_L-BI-S27G

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSGNIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLG

(SEQ ID NO: 199)

>EV1019-V_L-S27A

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSSANIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLR

5

(SEQ ID NO: 200)

>EV1019-V_L-BI-S27A

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSSANIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLG

(SEQ ID NO: 201)

EV1019 cadenas livianas sin secuencia señal

>EV1019-wt-original

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSSNIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

10

(SEQ ID NO: 202)

>EV1019-wt-BI

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSSNIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 203)

>EV1019-wt-BI2

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSSNIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 204)

15

>EV1019-wt original constante

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSSNIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 205)

>EV1019-N25S

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGSSNIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV

CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST

VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 206)

5

>EV1019-N25S-BI2

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGSSNIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST

VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 207)

>EV1019-N25G

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGGSSNIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST

VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 208)

>EV1019-N25G-BI2

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGGSSNIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST

VEKTVAPTECS

10

(SEQ ID NO: 209)

>EV1019-N25T

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGTSSNIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST

VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 210)

>EV1019-N25T-BI2

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGTSSNIGSYAVGWWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST

VEKTVAPTECS

15

(SEQ ID NO: 211)

>EV1019-N25R

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGRSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 212)

>EV1019-N25R-BI2

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGRSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 213)

>EV1019-N25Q

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGQSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

5

(SEQ ID NO: 214)

>EV1019-N25Q-BI2

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGQSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 215)

>EV1019-S27N

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSNNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 216)

10

>EV1019-S27N-BI2

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSNNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVVFGKSPASGI PDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 217)

>EV1019-S27G

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSGNIGSYAVGWYQQISRGA
PKIVVFGKSPASGIPDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT
VLRQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSN
NKAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 218)

>EV1019-S27G-BI2

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGN
SGNIGSYAVGWYQQISRGA
PKIVVFGKSPASGIPDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT
VLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSN
NKAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 219)

>EV1019-S27A

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGN
SANIGSYAVGWYQQISRGA
PKIVVFGKSPASGIPDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT
VLRQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSN
NKAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 220)

>EV1019-S27A-BI2

QPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGN
SANIGSYAVGWYQQISRGA
PKIVVFGKSPASGIPDRFSGSKSG
TTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT
VLGQPKAAPSVTLFPPSSEELQANKATLV
CLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSN
NKAASSYLSLTPEQWKSHRSYSCQVTHEGST
VEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 221)

EV1019 cadenas pesadas sin secuencia señal

>EV1019-IgG2

QAQLVESGGVVKPGGSLRLSCI
SSKFTFSSHAMHWVRQAPGK
GLEWVAIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDN
SKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFC
GKEWVGGTCDSWGQGTLVIVSSA
STKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSV
VTPSSNFGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKTVERKCC
VECP
PCPAPPVAGPSV
FLFPPKPKDTLM
ISRTPEV
TCV
VV
DVSH
PEVQF
NWYVDG
VEVHNA
KTPREE
QFN
STFR
VV
SV
LT
VV
H
QD
W
LN
G
KEY
KCKV
SN
KGL
P
API
EKT
IS
TK
KG
QP
REP
QVY
TL
LPP
S
RE
E
M
TK
N
QV
SL
T
CL
V
K
G
F
Y
P
SD
IA
V
E
W
E
N
G
Q
P
EN
NY
K
T
P
P
M
L
D
G
S
F
FL
Y
SK
LT
VD
K
SR
W
QQ
GN
V
F
SC
SVM
HE
AL
HN
HY
T
Q
K
S
L
S
P
G
K

5

(SEQ ID NO: 222)

>EV1019-wt-IgG4

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
 SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
 SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGKTYTCNVD
 HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
 FNWYVDGVEVHNAAKTPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
 PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
 TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 223)

>EV1019-wt-IgG4SP

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
 SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
 SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGKTYTCNVD
 HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
 FNWYVDGVEVHNAAKTPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
 PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
 TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 224)

>EV1019-C105G-IgG2

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
 SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
 SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSNFGTQTYTCNVD
 HKPSNTKVDKTVERKCCVECPVAPPAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
 NWYVDGVEVHNAAKTPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKKGQF

5

REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLT
 VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 225)

>EV1019-C105G-IgG4

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
 SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
 SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGKTYTCNVD
 HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
 FNWYVDGVEVHNAAKTPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
 PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
 TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 226)

>EV1019-C105G-IgG4SP

10

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTSDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 227)

>EV1019-C105S-IgG2

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTSDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
NWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKKGQ
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 228)

>EV1019-C105S-IgG4

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTSDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST

5

SESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 229)

>EV1019-C105S-IgG4SP

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTSDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 230)

>EV1019-C105A-IgG2

10

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSNFGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVHLDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMULDSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 231)

>EV1019-C105A-IgG4

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
FNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMULDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 232)

>EV1019-C105A-IgG4SP

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
FNWYVDGVEVHNAAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMULDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 233)

>EV1019-C105Q-IgG2

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTPSSNFGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
NWYVDGVEVHNAAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVHLDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMULDSDGSFFLYSRL
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 234)

>EV1019-C105Q-IgG4

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTQDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDVFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSLGTKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 235)

>EV1019-C105Q-IgG4SP

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTQDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDVFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSLGTKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ

PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 236)

>EV1019-C105T-IgG2

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDVFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSNFGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKTVERKCCVECPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDEVQF
NWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKKGQP
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSKL
TVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 237)

>EV1019-C105T-IgG4

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDVFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSLGTKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 238)

>EV1019-C105T-IgG4SP

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWRQAPGKGLEWAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSLGTKTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 239)

>EV1019-C105M-IgG2

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWRQAPGKGLEWAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST

SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSLGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
FNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPKG

5

(SEQ ID NO: 240)

>EV1019-C105M-IgG4

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWRQAPGKGLEWAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSLGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 241)

>EV1019-C105M-IgG4SP

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWRQAPGKGLEWAVIWHDGSKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTVWNNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTVPSLGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPAPAEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 242)

>EV1019-C105L-IgG2

10

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAIWHDGSKKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTLDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSNFGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKTVERKCCVECPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQF
NWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVHLDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKAKGQ
REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPMLSDGSFFLYSKLT
VDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 243)

>EV1019-C105L-IgG4

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAIWHDGSKKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTLDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPMLSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSGK

(SEQ ID NO: 244)

>EV1019-C105L-IgG4SP

QAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVAIWHDGSKKYYADSVKGRF
SVSRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTLDSWGQGTLVIVSSASTKGPSVFPLAPCSRST
SESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSSVTPSSSLGTQTYTCNVD
HKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQ
FNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQ
PREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQOPENNYKTPPMLSDGSFFLYSRL
TVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSGK

(SEQ ID NO: 245)

EV1019 cadenas pesadas con secuencia señal

>EV1019

MEFGLSWVFLAALLRGVQCOAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTCDSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPMLSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 246)

>EV1019-wt-IgG1-B1

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTCDSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLM

ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK
 (SEQ ID NO: 247)

>EV1019-wt-IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWDGSKKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 248)

5

>EV1019-C105G

MEFGLSWVFLAALLRGVQCQAQLVESGGVVKGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWDGSKKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 249)

>EV1019-C105G-IgG1-B1

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWDGSKKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTCDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPKSNKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 250)

>EV1019-C105G-IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTSDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGSPVFLFPPPKDTL
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 251)

>EV1019-C105S

MEFGLSWVFLAALLRGVQCQAQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTSDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGSPVFLFPPPKDTL
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 252)

>EV1019-C105S-IgG1-B1

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTSDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGSPVFLFPPPKDTL
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 253)

>EV1019-C105S-IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTSDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGSPVFLFPPPKDTL
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 254)

5

>EV1019-C105A

MEFGLSWVFLAALLRGVQCQQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 255)

>EV1019-C105A-IgG1-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 256)

>EV1019-C105A-IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGSPVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 257)

>EV1019-C105Q

MEFGLSWVFLAALLRGVQCQQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLM

ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 258)

>EV1019-C105Q-IgG1-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTQDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 259)

>EV1019-C105Q-IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTQDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 260)

>EV1019-C105T

MEFGLSWVFLAALLRGVQCQAQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 261)

>EV1019-C105T-IgG1-B1

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
 ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 262)

>EV1019-C105T-IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQQLVESGGVVPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTDSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNMGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 263)

>EV1019-C105M

MEFGLSWVFLAALLRGVQCQLVESGGVVPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTDSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNMGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 264)

>EV1019-C105M-IgG1-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQQLVESGGVVPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTDSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNMGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEELLGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHTQKSLSLSPGK

5

(SEQ ID NO: 265)

>EV1019-C105M-IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQQLVESGGVVPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTDSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSNMGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTQTYICNVNPKSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLM
ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
CKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 266)

>EV1019-C105L

10

MEFGLSWVFLAALLRGVQCQACLVESGGVVKGSSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNEKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTLDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPCPAPEELLGGPSVFLFPPPKDTL
 M ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPQREPQVYTLPPSRDELTNKQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 267)

>EV1019-C105L-IgG1-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQACLVESGGVVKGSSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNEKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTLDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPCPAPEELLGGPSVFLFPPPKDTL
 M ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPQREPQVYTLPPSRDELTNKQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 268)

>EV1019-C105L-IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGVHSQACLVESGGVVKGSSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNEKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTLDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTQTYICNVNHPNSNTKVDKVEPKSCDKTHTCPCPAPEAAGGPSVFLFPPPKDTL
 M ISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK
 CKVSNKALPAPIEKTISAKGQPQREPQVYTLPPSRDELTNKQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
 NNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 269)

EV1019 cadenas livianas con secuencia señal

>EV1019-wt-original

MAWTPLLQLLTLCSGSWAQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSSNIGSYAVGWWQQISRGAPKIVV
 FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPS
 VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
 EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 270)

>EV1019-wt-BI

MGWSCIILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNSSNIGSYAVGWWQQISRGAPKIVV
 FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLGQPKAAPS
 VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKGDSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
 EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 271)

>EV1019-wt-BI2

MGWSCIILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTTV_{LLC}SGN_{SSN}IGSYAVG_{WY}QQ_ISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT_VLQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCL_ISDFY_PGAVTV_AWKADSSPV_KAGVET_{TT}PSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 272)

>EV1019-wt original constante

MGWSCIILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTTV_{LLC}SGN_{SSN}IGSYAVG_{WY}QQ_ISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT_VLQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCL_ISDFY_PGAVTV_AWKADSSPV_KAGVET_{TT}PSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 273)

5

>EV1019-N25S

MGWSCIILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTTV_{LLC}SG_{SSN}IGSYAVG_{WY}QQ_ISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT_VLQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCL_ISDFY_PGAVTV_AWKADSSPV_KAGVET_{TT}PSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 274)

>EV1019-N25S-BI2

MGWSCIILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTTV_{LLC}SG_{SSN}IGSYAVG_{WY}QQ_ISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT_VLQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCL_ISDFY_PGAVTV_AWKADSSPV_KAGVET_{TT}PSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 275)

>EV1019-N25G

MGWSCIILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTTV_{LLC}SG_{SSN}IGSYAVG_{WY}QQ_ISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT_VLQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCL_ISDFY_PGAVTV_AWKADSSPV_KAGVET_{TT}PSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

10

(SEQ ID NO: 276)

>EV1019-N25G-BI2

MGWSCIILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTTV_{LLC}SG_{SSN}IGSYAVG_{WY}QQ_ISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLT_VLQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCL_ISDFY_PGAVTV_AWKADSSPV_KAGVET_{TT}PSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 277)

>EV1019-N25T

MGWSCI ILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGTSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTQLRQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 278)

>EV1019-N25T-BI2

MGWSCI ILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGTSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTQLRQPKAAPS

VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

5

(SEQ ID NO: 279)

>EV1019-N25R

MGWSCI ILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGRSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTQLRQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 280)

>EV1019-N25R-BI2

MGWSCI ILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGRSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTQLRQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 281)

10

>EV1019-N25Q

MGWSCI ILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGQSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTQLRQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 282)

>EV1019-N25Q-BI2

MGWSCI ILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGQSSNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTQLRQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 283)

>EV1019-S27N

MGWSCIILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNNSNNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 284)

>EV1019-S27N-BI2

MGWSCIILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNNSNNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

5

(SEQ ID NO: 285)

>EV1019-S27G

MGWSCIILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNNSGNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 286)

>EV1019-S27G-BI2

MGWSCIILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNNSGNIGSYAVGWYQQISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 287)

10

>EV1019-S27A

MGWSCIILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNNSANIGSYAVGWYQQISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 288)

>EV1019-S27A-BI2

MGWSCIILFLVATATGVHSQPALTQEASVSGTVGQTVTLLCSGNNSANIGSYAVGWYQQISRGAPKIVV
FGKSPASGIPDRFSGSKSGTTASLLVSGLQPEDEADYYCSTWDSRLSAVLFGGGTKLTVLRQPKAAPS
VTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADSSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLTP
EQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEKTVAPTECS

(SEQ ID NO: 289)

EV1019 cadenas pesadas con secuencia señal

15

>EV1019-IgG2

MEFGLSWVFLAALLRGVQCQACLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTCDSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPAGPSVFLFPPPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
KTPPMILDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 290)

>EV1019-wt-IgG4

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTCDSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 291)

>EV1019-wt-IgG4SP

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTCDSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 292)

>EV1019-C105G-IgG2

MEFGLSWVFLAALLRGVQCQACLVESGGVVKPGGLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTCDSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPAGPSVFLFPPPKDTLMISRT

PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAAKTPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPAPIEKTISAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
KTPPMILDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 293)

>EV1019-C105G-IgG4

MGWSCI I LFLVATATGVHSQ AQLVESGGVV KPGGSLRLSCI SSKFTFSS SHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYY ADSVKGRFS SRDNS KNTLFLQMDSLRAEDT AVYFCGKEWGGTDSWQGTLVIVS
SASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYF PEPVTVWSN SGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSS
VVTVPSS SLGT KTYTCNV DHKPSNTKVDKR VESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVV VDSQEDPEVQFNWY VDGVEVHN AKTKPREEQFN STYRVV S LT VLH QDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSS IEKTIS AKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTPPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSL SLGK

(SEQ ID NO: 294)

>EV1019-C105G-IgG4SP

MGWSCI I LFLVATATGVHSQ AQLVESGGVV KPGGSLRLSCI SSKFTFSS SHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYY ADSVKGRFS SRDNS KNTLFLQMDSLRAEDT AVYFCGKEWGGTDSWQGTLVIVS
SASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYF PEPVTVWSN SGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSS
VVTVPSS SLGT KTYTCNV DHKPSNTKVDKR VESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVV VDSQEDPEVQFNWY VDGVEVHN AKTKPREEQFN STYRVV S LT VLH QDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSS IEKTIS AKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTPPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSL SLGK

(SEQ ID NO: 295)

>EV1019-C105S-IgG2

MEFGLSWVFLAALLRGVQC AQLVESGGVV KPGGSLRLSCI SSKFTFSS SHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYY ADSVKGRFS SRDNS KNTLFLQMDSLRAEDT AVYFCGKEWGGTDSWQGTLVIVS
SASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYF PEPVTVWSN SGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSS
VVTVPSS NFGT QTYTCNV DHKPSNTKVDK VERKCC VECP CPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVV VDSHEDPEVQFNWY VDGVEVHN AKTKPREEQFN STFRVV S LT VVH QDWLNGKEYKCKV
NKGLPAPI IEKTIS TKGQPREPQVYTL PPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
TTPPMILDSDGSFFLYSKL TV DKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSL SPGK

5

(SEQ ID NO: 296)

>EV1019-C105S-IgG4

MGWSCI I LFLVATATGVHSQ AQLVESGGVV KPGGSLRLSCI SSKFTFSS SHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYY ADSVKGRFS SRDNS KNTLFLQMDSLRAEDT AVYFCGKEWGGTDSWQGTLVIVS
SASTKGPSV FPLAPCSRST SESTAALGCLVKDYF PEPVTVWSN SGALTSGVHTFP AVLQSSGLYSLSS
VVTVPSS SLGT KTYTCNV DHKPSNTKVDKR VESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVV VDSQEDPEVQFNWY VDGVEVHN AKTKPREEQFN STYRVV S LT VLH QDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSS IEKTIS AKGQPREPQVYTL PPSQEEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTPPPVLDSDGSFFLYSRLTV DKSRWQEGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSL SLGK

(SEQ ID NO: 297)

>EV1019-C105S-IgG4SP

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTDSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 298)

>EV1019-C105A-IgG2

MEFGLSWVFLAALLRGVQCQAQLVESGGVVPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSS
VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKV
NKGLPAPIEKTIKTKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPMILDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 299)

>EV1019-C105A-IgG4

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

5

(SEQ ID NO: 300)

>EV1019-C105A-IgG4SP

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTADSWGQGTLVIVS
SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAPLQSSGLYSLSS
VVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPCCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 301)

>EV1019-C105Q-IgG2

MEFGLSWVFLAALLRGVQCQACLVESGGVVKGSSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTQDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPPKDTLMISRT
 PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHLDWLNKEYKCKVS
 NKGLPAPIEKTISKKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
 TTPPMILDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 302)

>EV1019-C105Q-IgG4

MGWSCIILFLVATATGVHSQACLVESGGVVKGSSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTQDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDTLMISRT
 PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHLDWLNKEYKCKV
 SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
 KTPPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 303)

>EV1019-C105Q-IgG4SP

MGWSCIILFLVATATGVHSQACLVESGGVVKGSSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTQDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPPKDTLMISRT

5

TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHLDWLNKEYKCKV
 SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
 KTPPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 304)

>EV1019-C105T-IgG2

MEFGLSWVFLAALLRGVQCQACLVESGGVVKGSSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWVGGTDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPABLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPPKDTLMISRT
 PEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVVHLDWLNKEYKCKVS
 NKGLPAPIEKTISKKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
 TTPPMILDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 305)

>EV1019-C105T-IgG4

10

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
 KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 306)

>EV1019-C105T-IgG4SP

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
 KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 307)

>EV1019-C105M-IgG2

MEFGLSWVFLAALLRGVQCQAQLVESGGVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKTVERKCCVECPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTFRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 NKGLPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
 TTPPMILDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

5

(SEQ ID NO: 308)

>EV1019-C105M-IgG4

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
 VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEWGGTDSWGQGTLVIVS
 SASTKGPSVPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSS
 VVTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
 TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
 SNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
 KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK

(SEQ ID NO: 309)

>EV1019-C105M-IgG4SP

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRDNSKNTLFLQMDSLRAEDTAVYFCGKEVGGTLD**SWQGTLVIVS**
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFP**AVLQSSGLYSLSS**
VVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**CPA**PEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV**DGVEVHN**AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTIS**KAGQPREPQVYTLPPS**QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV**DKSRWQEGNV**FSCSV**MHEALHN**HYTQKSLSLSGK

(SEQ ID NO: 310)

>EV1019-C105L-IgG2

MEGLSWVFLAALLRGVQCQ**AQ**LVESGGVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRD**NSKNTLFLQMD**SLRAEDTAVYFCGKEVGGTLD**SWQGTLVIVS**
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFP**AVLQSSGLYSLSS**
VVTVPSSNFGTQTYTCNVDHKPSNTKVD**KTVERKCC**VECP**CPA**PPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRT
PEVTCVVVDVS**SHEDPEVQFNWYV**DGVEVHN**AKTKPREEQFN**STYRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKV
NKGLPAPIEKTIS**KAGQPREPQVYTLPPS**REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK
TTPPM**LSDGSFFLYSRLTV**DKSRWQ**QGNVF**SCSV**MHEALHN**HYTQKSLSLSPGK

5

(SEQ ID NO: 311)

>EV1019-C105L-IgG4

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRD**NSKNTLFLQMD**SLRAEDTAVYFCGKEVGGTLD**SWQGTLVIVS**
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFP**AVLQSSGLYSLSS**
VVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**CPA**PEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV**DGVEVHN**AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTIS**KAGQPREPQVYTLPPS**QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV**DKSRWQEGNV**FSCSV**MHEALHN**HYTQKSLSLSGK

(SEQ ID NO: 312)

>EV1019-C105L-IgG4SP

MGWSCIILFLVATATGVHSQAQLVESGGVVKPGGSLRLSCISSKFTFSSHAMHWVRQAPGKGLEWVA
VIWHDGSKYYADSVKGRFSVRD**NSKNTLFLQMD**SLRAEDTAVYFCGKEVGGTLD**SWQGTLVIVS**
SASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFP**AVLQSSGLYSLSS**
VVTVPSSSLGTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCP**CPA**PEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISR
TPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYV**DGVEVHN**AKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKV
SNKGLPSSIEKTIS**KAGQPREPQVYTLPPS**QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNY
KTTPPVLDSDGSFFLYSRLTV**DKSRWQEGNV**FSCSV**MHEALHN**HYTQKSLSLSGK

(SEQ ID NO: 313)

10

Secuencias consenso para EV1018 y EV1019

>V_H-CDR1 FTFSX₁X₂MH

X₁ es Y o H y X₂ es G o A

(SEQ ID NO: 314)

>V_H-CDR2

X₃X₄X₅HX_nGX_nX₆KX₇YADSVX₈G

cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₃ es L o V, X₄ es T o I, X₅ es Y o W, X₆ es R o K, X₇ es F o Y y X₈ es R o K

5 (SEQ ID NO: 314)

>V_H-CDR3

EX_nX₉GX₁₀X_nX_nDX_n

cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural, X₉ es M o V y X₁₀ es A o G

10 (SEQ ID NO: 316)

>V_L-CDR1

X_nGNX_nX_nNIGSX₁₁AVG

cada X_n es, de modo independiente, cualquier aminoácido natural y X₁₁ es H o Y

15 (SEQ ID NO: 317)

>V_L-CDR2

GX₁₂SPX₁₃SG

X₁₂ es R o K y X₁₃ es A o P

(SEQ ID NO: 318)

20 >V_L-CDR3

STWDSX₁₄LSAVX₁₅

X₁₄ es R o S y X₁₅ es V o L

(SEQ ID NO: 319) Secuencias de EV1003 y EV1007

>EV1003 cadena pesada (IgG1)

MDWTWRILFLVAAATGARSLVQLVQSEAEVKPGASVRISCRTSGYIFPTFALHWVRQAPGQSLEWVG
SINTASGKTKFSTKFQDRLTLSSNTSATTVYMDLSGLTLDDTALYYCARDRFQNIIMATILDVWGQGTL
VTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWSWNSGALTSGVHTFPAPVLQSSGLY
SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPCCPAPELLGGPSVFLFPPKPK
DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG
KEYKCKVSNKALPAPIEKTIASKAKGQPQREPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESN
GQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

25 (SEQ ID NO: 320)

>EV1003 cadena liviana (Kappa)

METPAQLLFLLLWLPGTTGDIVLTQSPGTLSSLSPGERVTVSCRASHRVSSNYLAWYQQRPGQSPRLL
IFGASN RATGV PDRFSGSGSGTDFALTISRLEPDDFAVYYCQQYASSPVTFGGGTKLEIKRTVAAPSV

FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLTL SK
ADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

(SEQ ID NO: 321)

>EV1007 cadena pesada (IgG1)

MDWTWRILFLVAAATGAPSQVHLVQSGSELKKPGASVKVSCKASGYFSRYSIGIKWVRQAPGQGLEWMG
WINTRSGVPAYAQGFTGRFVFSLDTSVDTAFLEISSLKTEDTGIYYCATRPPRFYDKTEYWEDGFDVW
GRGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVWNSGALTSGVHTFPAVLQ
SSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF
PPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ
DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV
EWESNGQPENNYKTPPVLDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEGLHNHYTQKSLSLSPGK

(SEQ ID NO: 322)

>EV1007 cadena liviana (Lambda)

MAGFPILLTLLTHCAGSWAQSVLTQPPSASGTPGQSVNISCGSSSNIGNSYVYWYQQLPGTAPKLLI
YRNNRPRSGVPDRFSGSKSDTSASLAIISGLRSEDEADYYCATWDDSLSGRLFGGGTKLTVLGQPKAAP
SVTLFPPSSEELQANKATLVCLISDFYPGAVTVAWKADGSPVKAGVETTPSKQSNNKYAASSYLSLT
PEQWKSHRSYSCQVTHEGSTVEMTVAPTECS

(SEQ ID NO: 323)

Secuencias señal y otras secuencias

>EV1018 MEFGLIWVFLVTLLRGVQC

(SEQ ID NO: 324)

10

>EV1018-wt IgG1KO

MGWSCIILFLVATATGV_HS

(SEQ ID NO: 325)

>EV1018 wt-original

MAWTPLLLQLLTLCSGSWA

15

(SEQ ID NO: 326)

TGTSSDVENYNLVS

(SEQ ID NO: 327)

EGSKRPS

(SEQ ID NO: 328)

20

CSYAGSSVW

(SEQ ID NO: 329)

SGNSSNIGSYAVG

(SEQ ID NO: 330)

GKSPAS

25

(SEQ ID NO: 331)

STWDSRLSAV_L
 (SEQ ID NO: 332)

SHAMH
 (SEQ ID NO: 333)

5 VIWHDGSKYYADSVKG
 (SEQ ID NO: 334)

EWVGGTCDS
 (SEQ ID NO: 335)

SGSSSNIGNSYVY
 10 (SEQ ID NO: 336)

RNNRRPS
 (SEQ ID NO: 337)

ATWDDSLSGRL
 (SEQ ID NO: 338)

15 RYGIK
 (SEQ ID NO: 339)

WINTRSGVPAYAQGFTG
 (SEQ ID NO: 340)

RPPRFYDKTEYWEDGFDV
 20 (SEQ ID NO: 341)

RASHRVSSNYLA
 (SEQ ID NO: 342)

GASN RAT
 (SEQ ID NO: 343)

25 QQYASSPVT
 (SEQ ID NO: 344)

TFALH
 (SEQ ID NO: 345)

SINTASGKTKFSTKFQD
 30 (SEQ ID NO: 346)

DRFQNIMATILDV
 (SEQ ID NO: 347) EV1018 regiones variables de cadena pesada
 >EV1018-V_H
 QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
 TISRDNSNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS
 (SEQ ID NO: 348)

>EV1018-V_H-wt

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 349)

>EV1018-V_H-T97A

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 350)

5

>EV1018-V_H-T97V

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 351)

>EV1018-V_H-N95D

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 352)

>EV1018-V_H-N95E

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

10

(SEQ ID NO: 353)

>EV1018-V_H-N95K

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 354)

>EV1018-V_H-N95Q

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 355)

15

>EV1018-V_H-N93Q-N95T

QVELVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 356)

>EV1018-V_H-T97A IgG1 original constante

QVQLVESGGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
TISRDNSNNALYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

20

(SEQ ID NO: 357)

>EV1018-V_H-T97V IgG1 original constante

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
 TISRDNSNNVLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 358)

>EV1018-V_H-N95D IgG1 original constante

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
 TISRDNSDNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 359)

>EV1018-V_H-N95E IgG1 original constante

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
 TISRDNSENTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

5

(SEQ ID NO: 360)

>EV1018-V_H-N95K IgG1 original constante

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
 TISRDNSKNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 361)

>EV1018-V_H-N95Q IgG1 original constante

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
 TISRDNSQNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 362)

10

>EV1018-V_H-N93Q-N95T IgG1 original constante

QVQLVESGGMVQPGMPLRLSCVASGFTFSSYGMHWVRQAPGKGLEWVALTYHHGNRKFYADSVRGRF
 TISRDQSTNTLYLQMTSLRAEDTAVYFCARESMGAINDNWGQGTLVIVSS

(SEQ ID NO: 363)

EV1018 regiones variables de cadena liviana

>EV1018-V_L-wt-original

QSALTQETSVSGTVGQKVTLSIGNNNNIGSHAVGWWYQQISRGAPKMVLFGRSPPSGVPDRFSGSKSG
 TTASLIISGLQPEDEADYYCSTWDSSLSSAVVFGGGTKLTVLR

15

(SEQ ID NO: 364)

>EV1018-V_L-wt-B1

QSALTQETSVSGTVGQKVTLSIGNNNNIGSHAVGWWYQQISRGAPKMVLFGRSPPSGVPDRFSGSKSG
 TTASLIISGLQPEDEADYYCSTWDSSLSSAVVFGGGTKLTVLG

(SEQ ID NO: 365)

20

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF aislado o su fragmento de unión a antígeno, donde dicho anticuerpo o fragmento de unión a antígeno comprende:

5 (a) una cadena pesada que comprende una secuencia que contiene V_H -CDR1, una secuencia que contiene V_H -CDR2 y una secuencia que contiene V_H -CDR3, en donde:

- (i) la secuencia que contiene V_H -CDR1 es SYGMH (SEQ ID NO: 4),
- (ii) la secuencia que contiene V_H -CDR2 es LTYHHGNRKFYADSVRG (SEQ ID NO: 5), y
- (iii) la secuencia que contiene V_H -CDR3 es ESMGAINDN (SEQ ID NO: 6); y

10 (b) una cadena liviana que comprende una secuencia que contiene V_L -CDR1, una secuencia que contiene V_L -CDR2 y una secuencia que contiene V_L -CDR3, en donde:

- (i) la secuencia que contiene V_L -CDR1 es IGNINNIGSHAVG (SEQ ID NO: 7),
- (ii) la secuencia que contiene V_L -CDR2 es GRSPPS (SEQ ID NO: 8), y
- (iii) la secuencia que contiene V_L -CDR3 es STWDSSLSAVV (SEQ ID NO: 9).

15 2. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno se une con GM-CSF humano con una K_D de menos de 400 pM.

3. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 2, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno neutraliza la actividad de hGM-CSF, de modo tal que el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno tenga un valor de IC50 de menos de 100 pM tal como se determina en un ensayo de proliferación de TF-1 en ED80.

20 4. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 1 ó 2, en donde la cadena pesada está seleccionada del grupo que consiste en gamma 1 (γ_1), gamma 2 (γ_2), gamma 3 (γ_3) y gamma 4 (γ_4).

5. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 4, en donde la cadena pesada es gamma 1 (γ_1).

25 6. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 4 ó 5, en donde la cadena pesada es una cadena liviana lambda.

7. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en donde la cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46 o de SEQ ID NO: 51.

8. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 7, en donde la cadena pesada tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 51.

30 9. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en donde la cadena liviana tiene una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 36.

10. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno, de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 6, en donde la secuencia de la región de cadena pesada variable es SEQ ID NO: 348 o es SEQ ID NO: 361 y en donde la secuencia de la región de cadena liviana variable es SEQ ID NO: 365.

35 11. El anticuerpo o fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 10, en donde la secuencia de la región de cadena pesada variable es SEQ ID NO: 361.

12. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno, de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, en donde la secuencia de cadena pesada es SEQ ID NO: 46 o es SEQ ID NO: 51 y en donde la secuencia de cadena liviana es SEQ ID NO: 36.

40 13. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno, de acuerdo con la reivindicación 12, en donde la secuencia de cadena pesada es SEQ ID NO: 51.

14. Una composición farmacéutica que comprende el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 y un portador farmacéuticamente aceptable.

45 15. Un kit que comprende: (a) el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 y (b) uno o varios recipientes que contienen el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno.

16. Un ácido nucleico aislado que codifica el anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13.

17. El ácido nucleico aislado de acuerdo con la reivindicación 16, en donde el ácido nucleico es un ADN.

18. Un vector que comprende el ADN de acuerdo con la reivindicación 17.

5 19. Una célula huésped que comprende el vector de acuerdo con la reivindicación 18, en donde el vector es un vector de expresión.

20. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 14 para usar como un medicamento.

10 21. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 13 o la composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 14 para usar en el tratamiento de una enfermedad o trastorno asociados con sobreexpresión de hGM-CSF en un sujeto.

22. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 21, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a antígeno se administra al sujeto en una dosis que no excede 500 mg.

15 23. El anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 21 ó 22, en donde la enfermedad o trastorno está seleccionada del grupo que consiste en enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC), asma, asma bronquial, asma pediátrica, asma severa, ataques agudos de asma, fibrosis quística, enfermedad pulmonar intersticial, rinitis, artritis y artropatías relacionadas, artritis reumatoidea, psoriasis, leucemia mieloide y esclerosis múltiple.

20 24. Un método para producir un anticuerpo monoclonal anti-hGM-CSF de acuerdo con la reivindicación 1 o su fragmento de unión a antígeno de acuerdo con la reivindicación 1 que se une con hGM-CSF, en donde el anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno comprende al menos una secuencia que contiene V_H -CDR1, una secuencia que contiene V_H -CDR2, una secuencia que contiene V_H -CDR3, una secuencia que contiene V_L -CDR1, una secuencia que contiene V_L -CDR2 y una secuencia que contiene V_L -CDR3, en una célula huésped, que comprende:

25 (i) obtener la célula huésped que comprende al menos una secuencia de ADN que codifica al menos la secuencia que contiene V_H -CDR1, la secuencia que contiene V_H -CDR2, la secuencia que contiene V_H -CDR3, la secuencia que contiene V_L -CDR1, la secuencia que contiene V_L -CDR2 y la secuencia que contiene V_L -CDR3, en donde:

(a) la secuencia que contiene V_H -CDR1 es SYGMH (SEQ ID NO: 4),

(b) la secuencia que contiene V_H -CDR2 es LTYHHGNRKFYADSVRG (SEQ ID NO: 5),

(c) la secuencia que contiene V_H -CDR3 es ESMGAINDN (SEQ ID NO: 6),

(d) la secuencia que contiene V_L -CDR1 es IGNNNNIGSHAVG (SEQ ID NO: 7),

30 (e) la secuencia que contiene V_L -CDR2 es GRSPPS (SEQ ID NO: 8), y

(f) la secuencia que contiene V_L -CDR3 es STWDSSLSAVV (SEQ ID NO: 9); y

(ii) cultivar la célula huésped en condiciones apropiadas para la expresión de ADN y producción del anticuerpo o su fragmento de unión a antígeno.

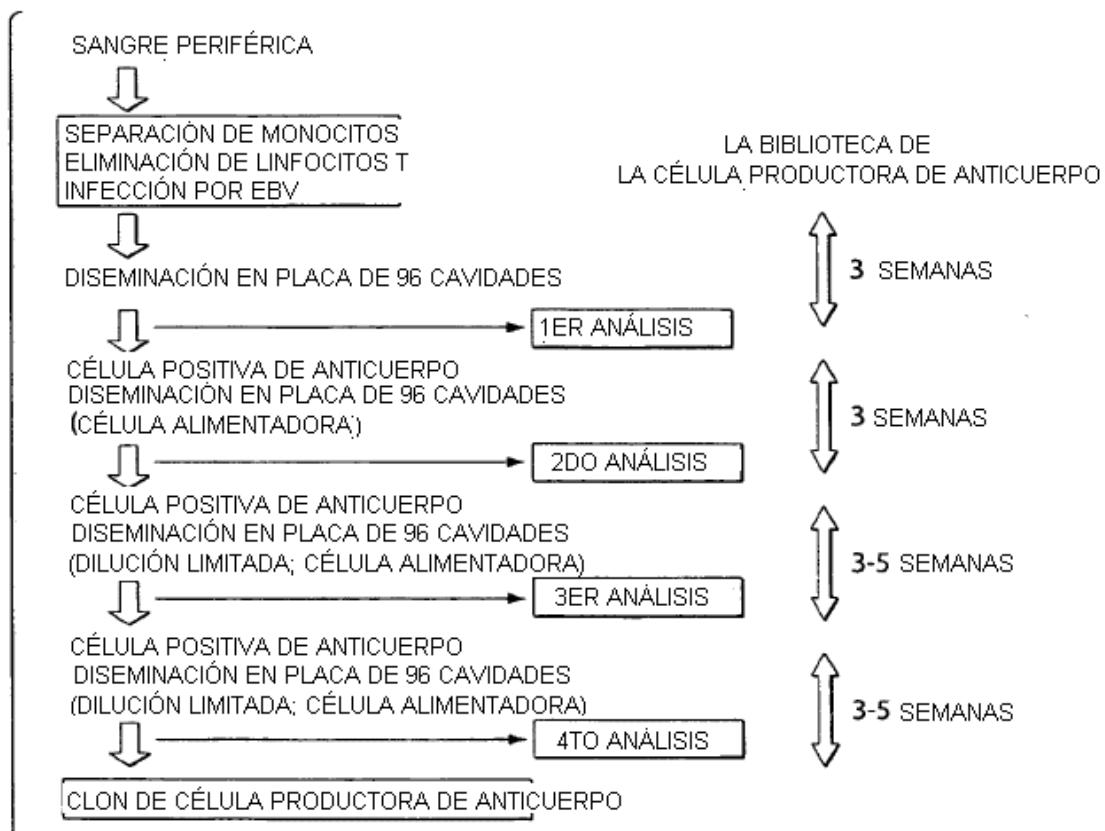


Fig. 1

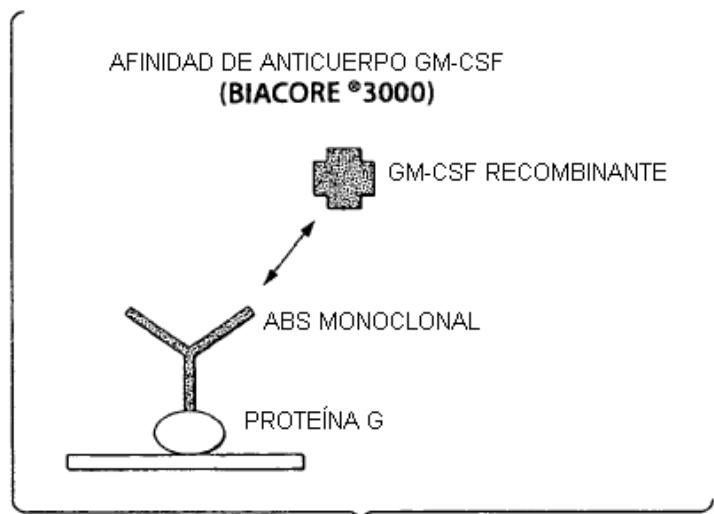


Fig. 2

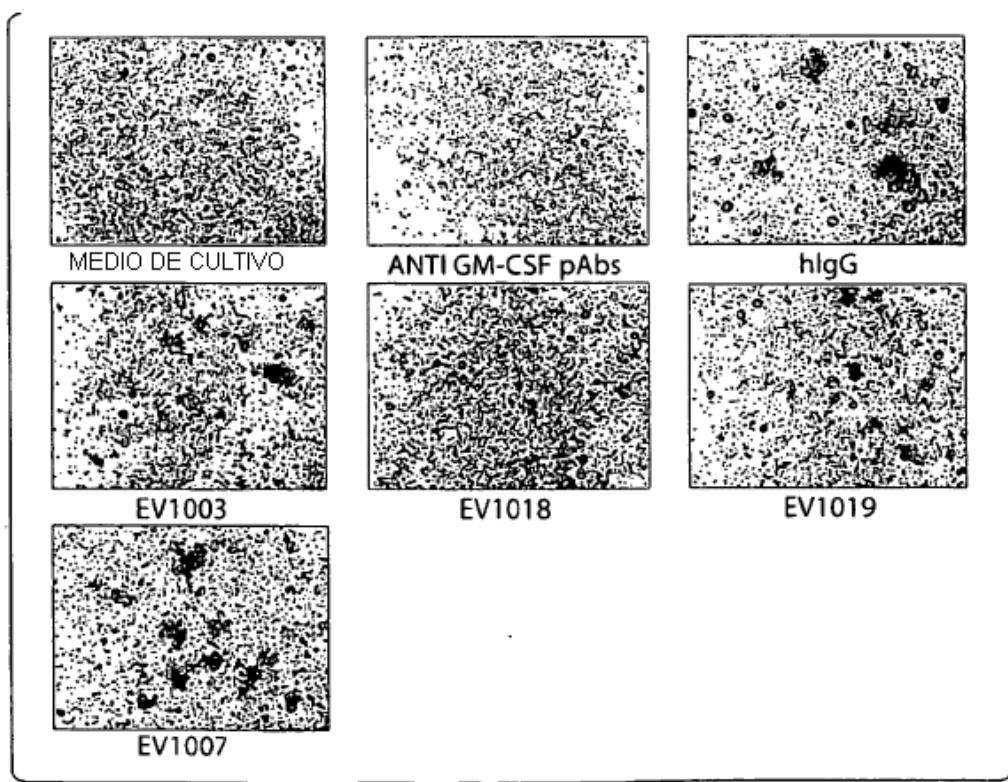


Fig. 3

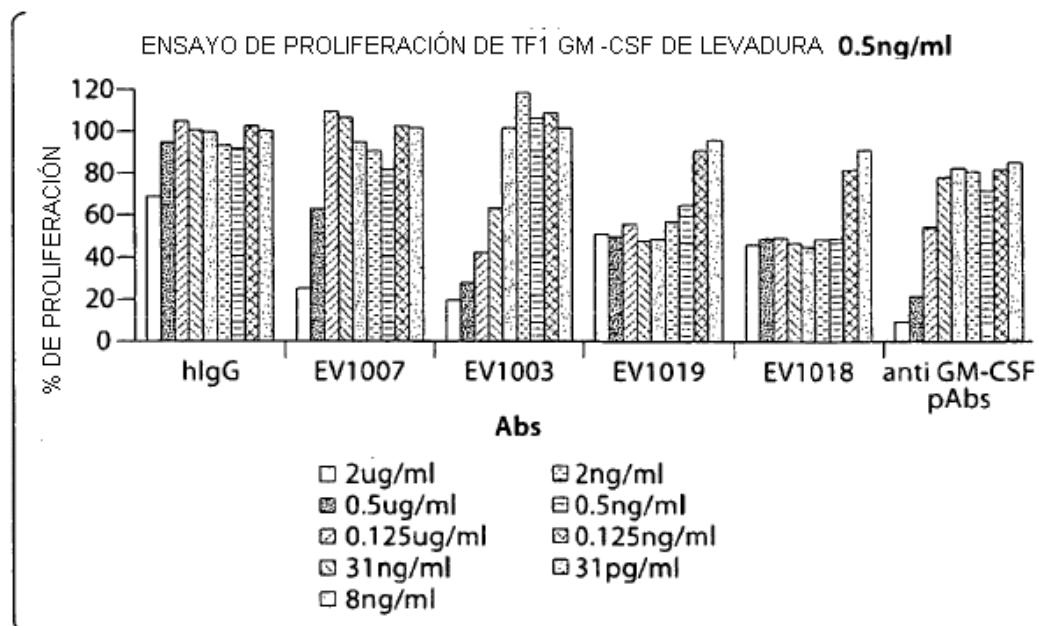


Fig. 4

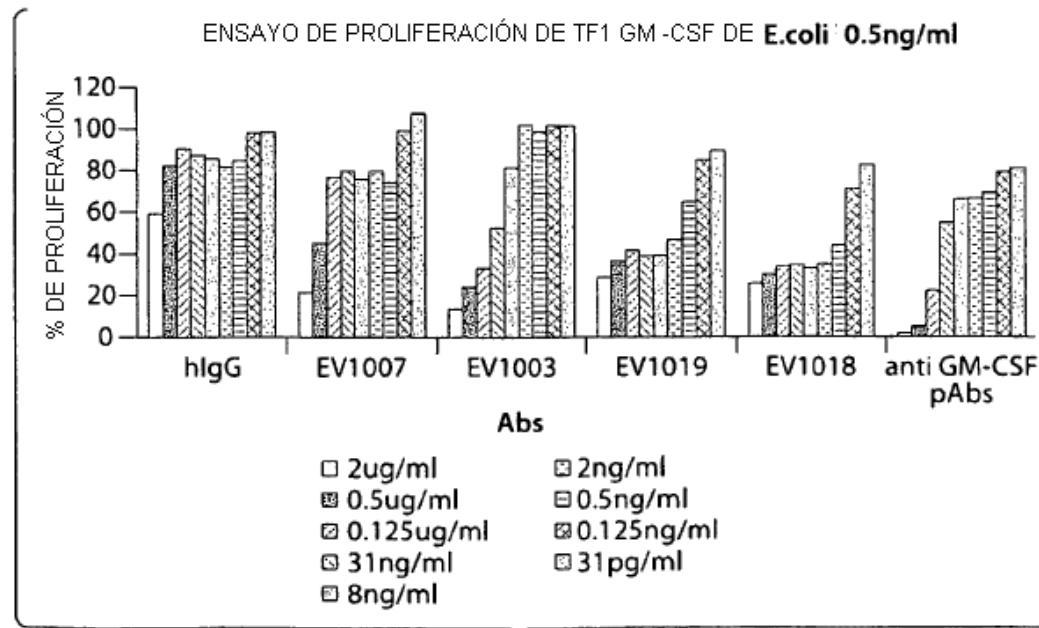


Fig. 5

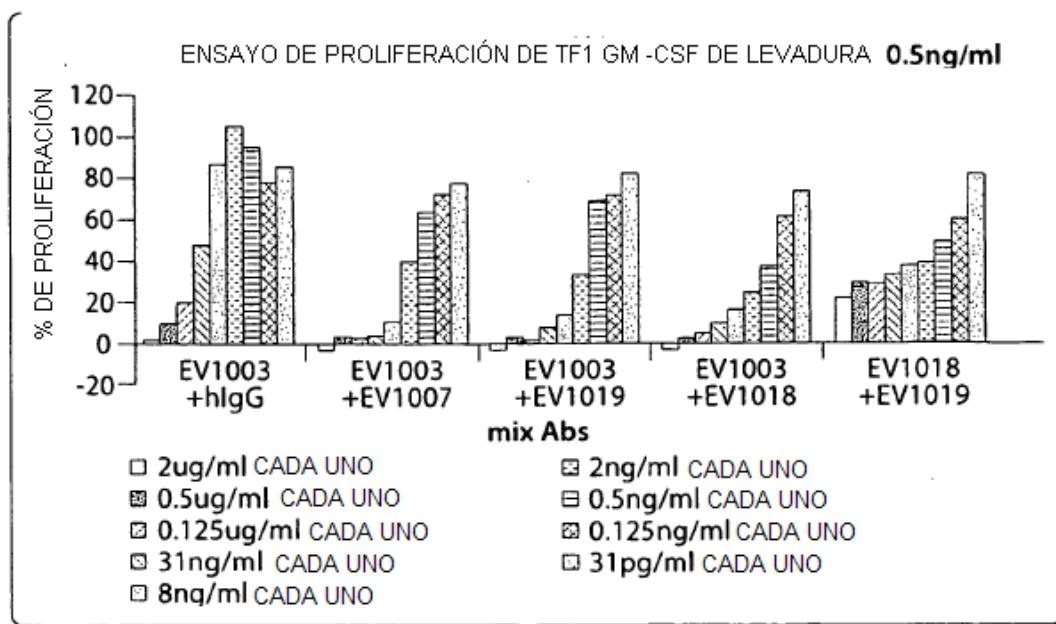


Fig. 6

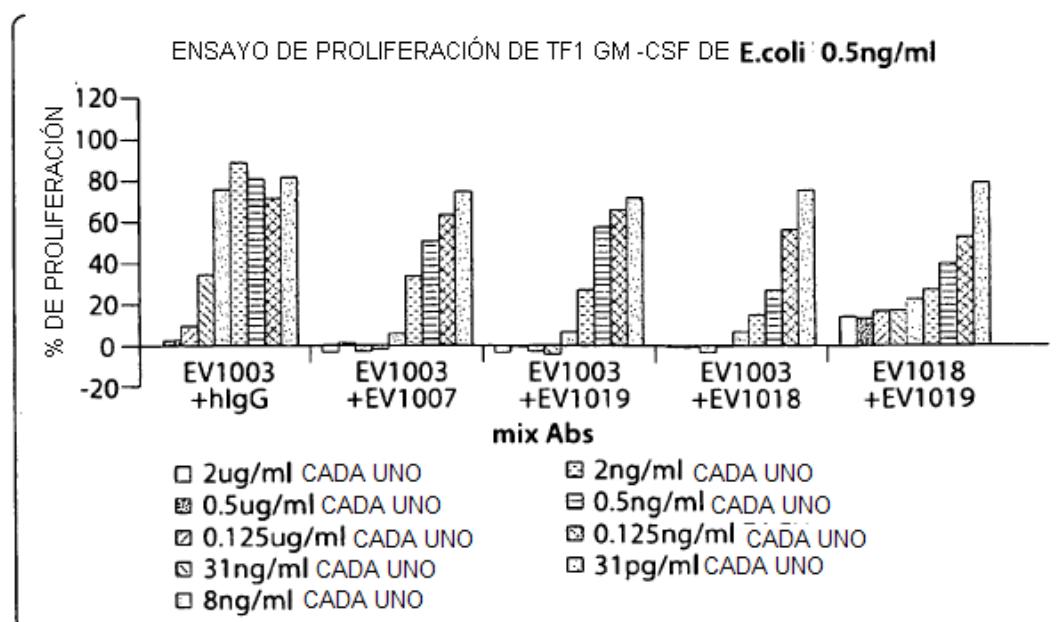


Fig. 7

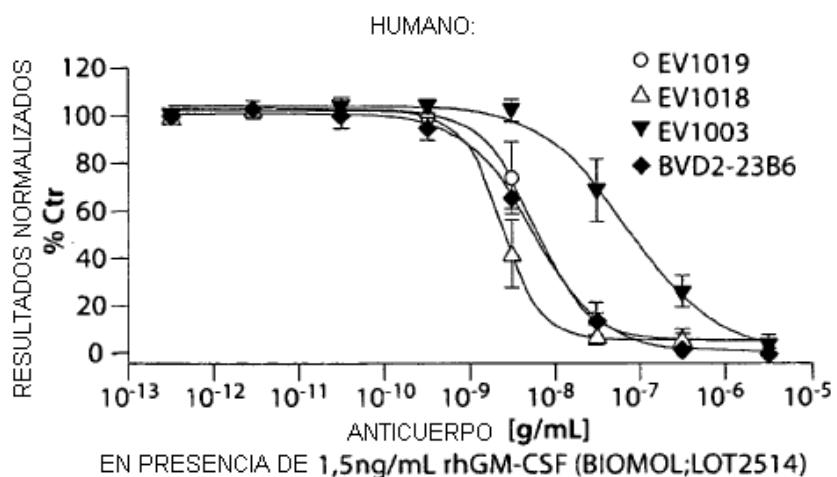


Fig. 8A

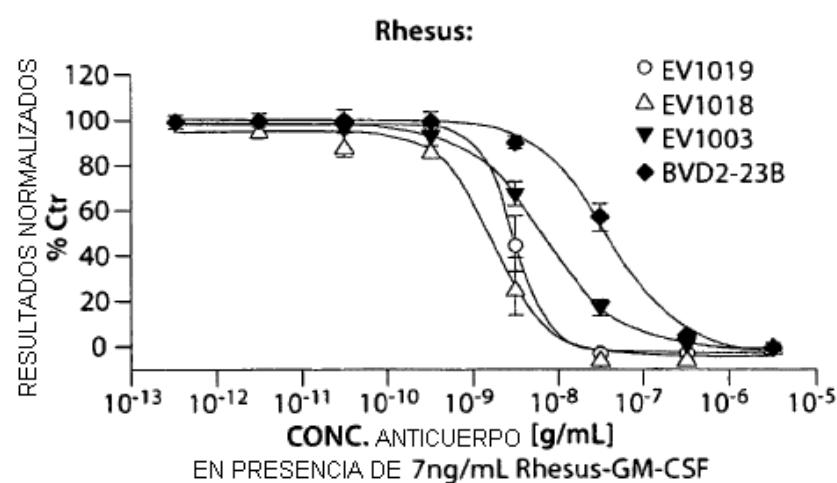


Fig. 8B

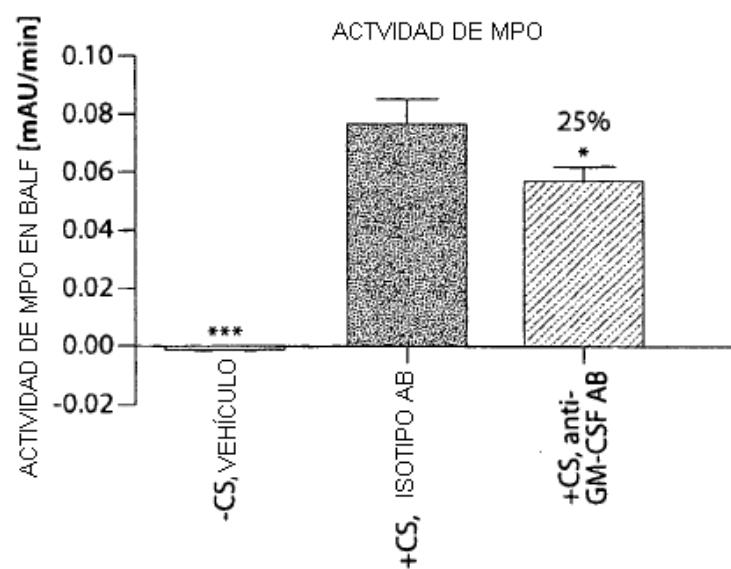


Fig. 9A

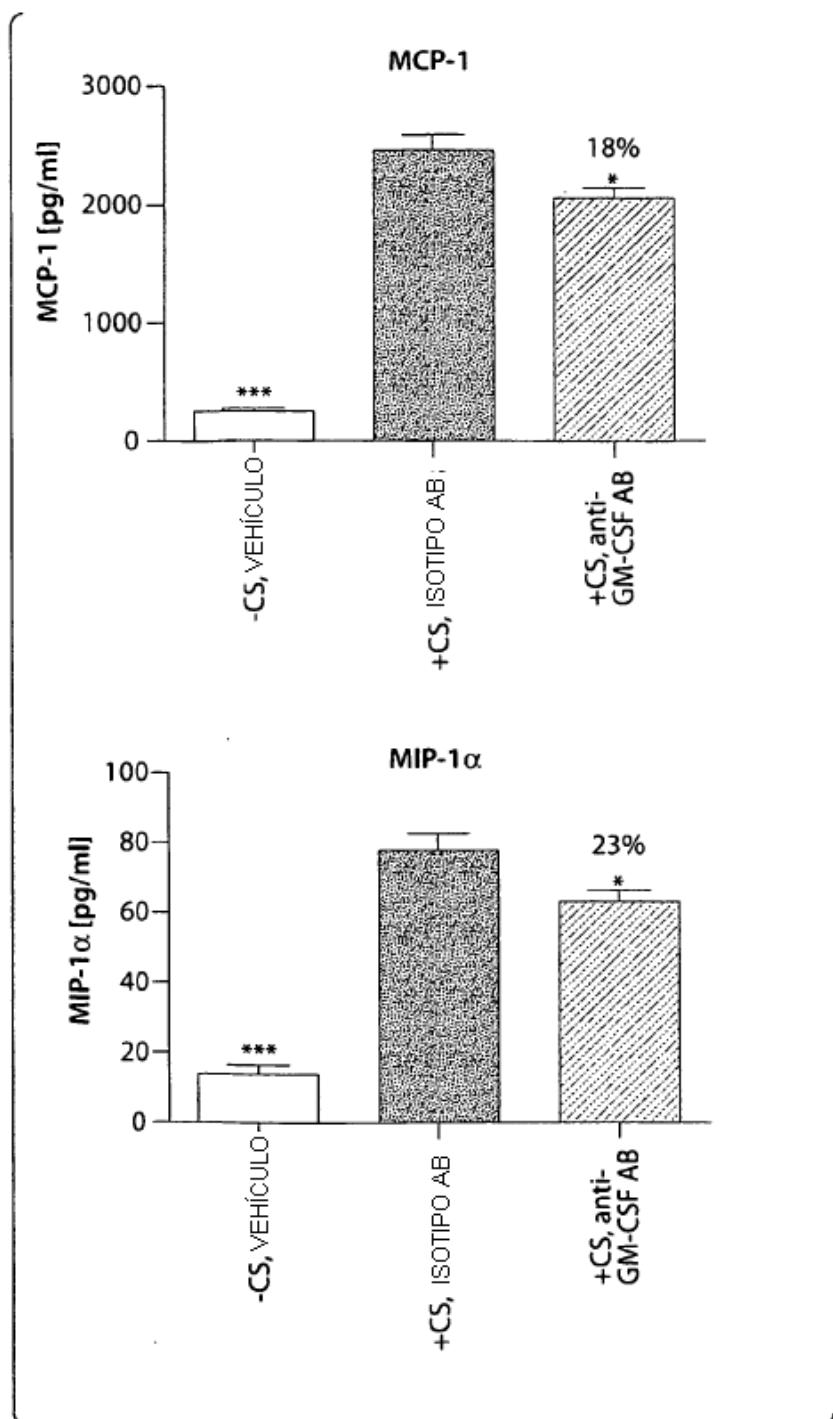


Fig. 9B