

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 565 058**

51 Int. Cl.:

A61K 39/395 (2006.01)

A61P 3/10 (2006.01)

C07K 16/26 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.09.2010 E 10766418 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **13.01.2016 EP 2480254**

54 Título: **Anticuerpos de unión al receptor de insulina**

30 Prioridad:

19.02.2010 US 306321 P

25.09.2009 US 246067 P

25.06.2010 US 358749 P

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

31.03.2016

73 Titular/es:

XOMA (US) LLC (100.0%)

2910 Seventh Street

Berkeley, CA 94710, US

72 Inventor/es:

WHITE, MARK LESLIE;

WATSON, SUSAN R.;

BHASKAR, VINAY y

CORBIN, JOHN

74 Agente/Representante:

VALLEJO LÓPEZ, Juan Pedro

Observaciones :

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

ES 2 565 058 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 de unión al receptor de insulina

5 Referencia cruzada a solicitud relacionada

Campo de la invención

La presente divulgación se refiere a nuevos moduladores y/o agonistas del complejo de señalización insulina-receptor de insulina y a métodos para explorar respecto de dichos moduladores y/o agonistas. Dichos moduladores y/o agonistas pueden, por ejemplo, usarse para tratar a un sujeto mamífero que padece diabetes de tipo 2, obesidad, hiperglucemia, hiperinsulinemia, sobredosis de insulina, enfermedad renal crónica, diabetes de tipo 1, resistencia a la insulina y patologías y afecciones caracterizadas por la resistencia a la insulina o para prevenir la aparición de las mismas en un sujeto que esté en riesgo.

Antecedentes de la invención

La presente divulgación se refiere a nuevos moduladores y/o agonistas del complejo de señalización insulina-receptor de insulina, a métodos para explorar respecto de dichos moduladores y/o agonistas y al uso de dichos moduladores y/o agonistas en el tratamiento o prevención de patologías y afecciones caracterizadas por la producción y/o utilización anormal de insulina.

La hormona peptídica insulina es un regulador principal de la homeostasia de la glucosa y del crecimiento celular. La primera etapa en la acción de la insulina es la unión de la hormona al receptor de insulina (INSR), una glucoproteína integral de membrana, también denominada CD220 o HHF5. El INSR pertenece a la superfamilia de receptores de factores de crecimiento de tirosina cinasa y está compuesta de dos subunidades α extracelulares que se unen a insulina, y dos subunidades β transmembrana con actividad intrínseca de tirosina cinasa. La secuencia de aminoácidos del INSR se describe en el documento US 4.761.371 y como la referencia de secuencia del NCBI NP_000199.2. El INSR se expresa en dos isoformas, INSR-A e INSR-B. La estructura tridimensional del fragmento de ectodominio homodimérico intacto de INSR humano se ha resuelto usando cristalografía de rayos X (documento WO07/147213). Las isoformas de INSR también forman heterodímeros, INSR-A/INSR-B, y receptores INSR/IGF-1R híbridos, cuyo papel en la fisiología y en enfermedades aún no se entiende completamente (Belfiore et al, Endocrine Rev., 30(6):586-623, 2009).

Cuando la insulina se une al INSR, el receptor se activa mediante la autofosforilación de la tirosina y la tirosina cinasa del INSR fosforila diversas moléculas efectoras, incluyendo el sustrato de receptor de insulina 1 (IRS-1), dando lugar a la acción hormonal (Ullrich et al, Nature 313: 756-761, 1985; Goldfine et al, Endocrine Reviews 8: 235-255, 1987; White y Kahn, Journal Biol. Chem. 269: 1-4, 1994). La unión de IRS-1 y la fosforilación dan lugar en última instancia a un aumento en las moléculas de transportador de glucosa de alta afinidad (Glut4) en la membrana externa de los tejidos que responden a insulina, incluyendo células musculares y tejido adiposo, y por lo tanto a un aumento en la captación de glucosa desde la sangre al interior de estos tejidos. Glut4 se transporta a través de vesículas celulares a la superficie externa, donde puede mediar el transporte de glucosa al interior de la célula. Una disminución en la señalización de INSR, da lugar a una reducción en la captación de glucosa por las células, a hiperglucemia (un aumento en la glucosa circulante), y a todas las secuelas resultantes.

La reducción en la captación de glucosa puede dar lugar a resistencia a la insulina, que describe una afección en la que las cantidades fisiológicas de insulina no son adecuadas para producir una respuesta normal a la insulina por parte de células o tejidos. La resistencia a la insulina grave se asocia con la diabetes, mientras que la resistencia a la insulina menos grave también se asocia con una serie de patologías y afecciones presentes en aproximadamente el 30-40 % de los individuos no diabéticos (revisado en Woods et al, End, Metab & Immune Disorders -Drug Targets 9: 187-198, 2009).

Los tratamientos actuales para la diabetes y la resistencia a la insulina se dirigen hacia la mejora de la secreción de insulina, la reducción de la producción de glucosa, y la mejora de la acción de la insulina.

Actualmente, hay varias estrategias farmacológicas para el tratamiento de la diabetes de tipo 2 (Scheen et al, Diabetes Care, 22(9):1568-1577, 1999; Zangeneh et al, Mayo Clin. Proc. 78: 471-479, 2003; Mohler et al, Med Res Rev 29(1): 125-195, 2009). Estas actúan a través de diferentes modos de acción: 1) las sulfonilureas (por ejemplo, glimepirida, glisentida, sulfonilurea, AY31637) esencialmente estimulan la secreción de insulina; 2) las biguanidas (por ejemplo, metformina) actúan promoviendo la utilización de la glucosa, reduciendo la producción de glucosa hepática y disminuyendo la producción de glucosa intestinal; 3) los inhibidores de alfa-glucosidasa (por ejemplo, acarbosa, miglitol) frenan la digestión de hidratos de carbono y por consiguiente la absorción intestinal y reducen la hiperglucemia postprandial; 4) las tiazolidindionas (por ejemplo, troglitazona, pioglitazona, rosiglitazona, glipizida, balaglitazona, rivoglitazona, netoglitazona, troglitazona, englitazona, AD 5075, T 174, YM 268, R 102380, NC 2100, NIP 223, NIP 221, MK 0767, ciglitazona, adaglitazona, CLX 0921, darglitazona, CP 92768, BM 152054) mejoran la acción de la insulina, de este modo promoviendo la utilización de la glucosa en tejidos periféricos; 5) los péptidos y

agonistas similares al glucagón (por ejemplo, exendina) o estabilizadores de los mismos (por ejemplo, inhibidores de DPP4, tales como sitagliptina) potencian la secreción de insulina estimulada por glucosa; y 6) insulina o análogos de la misma (por ejemplo, LANTUS®) estimulan la utilización de glucosa por los tejidos e inhibe la producción de glucosa hepática. Las estrategias farmacológicas anteriormente mencionadas pueden utilizarse de manera individual o en terapia combinada. Sin embargo, cada estrategia tiene sus limitaciones y efectos adversos. Con el tiempo, un gran porcentaje de los sujetos con diabetes de tipo 2 pierden su respuesta a estos agentes. El 63 % de los pacientes con diabetes de tipo 2 no logra alcanzar niveles globales de HbA_{1c} de < 7 %, tal como se aconseja por la American Diabetes Association, y por lo tanto tienen un riesgo elevado de desarrollar complicaciones. Además, de manera prácticamente invariable los pacientes progresan hacia los estadios de pérdida de la función pancreática. Típicamente, el tratamiento de insulina se prescribe después de que la dieta, el ejercicio y las medicaciones orales hayan fracasado en el control adecuado de la glucosa en sangre. Los inconvenientes del tratamiento de insulina son la necesidad de inyectar el fármaco, el potencial de hipoglucemia, y el aumento de peso. Por consiguiente, sigue habiendo una necesidad urgente de nuevos agentes anti-diabéticos.

Se han comunicado anticuerpos que se unen a INSR humano en Soos et al, Biochem. J. 235: 199-208, 1986; Taylor et al, Biochem. J. 242: 123-129, 1987; Prigent et al, J. Biol. Chem. 265(17):9970-9977, 1990; Brindle et al, Biochem. J. 268: 615-620, 1990; Steele-Perkins y Roth, J. Biol. Chem. 265(16): 9458-9463, 1990; McKern et al, Nature 443(14): 218-221; Boado et al, Biotech and BioEng. 96(2): 381-391; documento WO04/050016; Roth et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 7312-7316, 1982; Morgan et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 328-332, 1986; Lebrun et al, J. Bl. Chem. 268(15): 11272-11277, 1993; Forsayeth et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 3448-3451, 1987; Forsayeth et al, J. Biol. Chem. 262(9): 4134-4140, Goodman et al, J. Receptor Res. 14(6-8), 381-398, 1994; Ganderton et al, Biochem J. 288: 195-205, 1992; Spasov et al, Bull. of Exp. Biol. and Med. 144(1): 46-48, 2007; documento EP 2 036 574 A1.

Sumario de la invención

La presente invención se expone en las reivindicaciones adjuntas.

La presente divulgación se refiere a agentes de unión polipeptídicos, por ejemplo, anticuerpos o fragmentos de los mismos, que modulan y/o agonizan al complejo de señalización insulina-INSR uniéndose a regiones extracelulares de INSR no complejo a insulina, al INSR complejo con insulina, o a ambos. INSR es un receptor de la superficie celular unido a membrana.

En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un antagonista alostérico del receptor de insulina y que se une a (i) el receptor de insulina o (ii) un complejo que comprende insulina y receptor de insulina, o tanto a (i) como a (ii), con una constante de equilibrio de disociación K_D de 10^{-5} M o menos o que es capaz de debilitar la afinidad de unión entre la insulina y el receptor de insulina en al menos 3 veces, opcionalmente hasta 1000 veces, tal como se expone en la reivindicación 1.

En una realización adicional, la invención proporciona un método para preparar una composición farmacéutica estéril, que comprende añadir un diluyente farmacéuticamente aceptable estéril a un anticuerpo de la invención, tal como se expone en la reivindicación 16.

En una realización adicional, la invención proporciona una composición estéril que comprende el anticuerpo de la invención y un diluyente farmacéuticamente aceptable estéril, tal como se expone en la reivindicación 17.

En una realización adicional, la invención proporciona un anticuerpo para su uso en un método para tratar una afección asociada con la hiperinsulinemia o con el exceso de señalización de insulina, en el que en dicho método el anticuerpo se administra en una cantidad eficaz para tratar la hipoglucemia o la sensibilidad a la insulina, tal como se expone en la reivindicación 18.

Los aspectos y realizaciones adicionales se exponen en las reivindicaciones adjuntas.

En un aspecto, la divulgación proporciona un anticuerpo que se une al receptor de insulina y/o a un complejo que comprende insulina y receptor de insulina con una constante de equilibrio de disociación K_D de 10^{-5} M o menos que es capaz de fortalecer la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión entre insulina y el receptor de insulina (INSR) en aproximadamente 5 veces a 200 veces. En una realización, el anticuerpo es capaz de fortalecer la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión entre la insulina y el receptor de insulina en aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 100 veces, o de aproximadamente 2 veces a 25 veces. Se contempla además que la modulación sea de aproximadamente 2 veces a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 25 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 50 veces, por ejemplo, al menos 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 16 veces, 17 veces, 18 veces, 19 veces o 20 veces, o hasta 100 veces, o hasta 90 veces, o hasta 80 veces, o hasta 70 veces, o hasta 60 veces, o hasta 50 veces, o hasta 40 veces, o hasta 30 veces, o hasta 20 veces, o hasta 10 veces. En una realización adicional, el anticuerpo fortalece la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión en 1,5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17,

18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 o 100 veces o más, o cualquier intervalo entre cualquiera de estos valores. En algunas realizaciones, la afinidad de unión es una cualquiera de K_A , K_D , la relación de la velocidad de asociación dividida entre la velocidad de disociación, o la relación de la velocidad de disociación dividida entre la velocidad de asociación. En realizaciones ejemplares específicas, el anticuerpo
 5 aumenta la K_A en el múltiplo deseado, o reduce la K_D en el múltiplo deseado, o aumenta la relación de la velocidad de asociación a la velocidad de disociación en el múltiplo deseado, o disminuye la relación de la velocidad de disociación a la velocidad de asociación en el múltiplo deseado. En algunas realizaciones, el parámetro de velocidad de unión es la velocidad de asociación o la velocidad de disociación. En realizaciones ejemplares específicas, el anticuerpo aumenta la velocidad de asociación o reduce la velocidad de disociación. Como alternativa, en algunas
 10 realizaciones donde la afinidad de unión no cambia de manera detectable o significativa, aumentar la velocidad de asociación y aumentar la velocidad de disociación puede desplazar la ruta de señalización desde la señalización mitogénica hacia la señalización metabólica (captación de glucosa).

En una realización, un anticuerpo que fortalece la afinidad de unión entre la insulina y el INSR es un modulador
 15 positivo.

En otro aspecto, el anticuerpo es un agonista.

En un aspecto relacionado, un anticuerpo que activa al INSR sin dependencia de la insulina es un agonista
 20 alostérico. En determinadas realizaciones, la invención proporciona un anticuerpo agonista alostérico que se une al receptor de insulina con una afinidad de al menos 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} M y (a) muestra actividad agonista máxima que es del 20 %-80 % de la actividad agonista máxima de la insulina cuando se mide en un ensayo de pAKT, (b) cuando está presente no altera la CE_{50} de la insulina por INSR en más de 2 veces, y (c) cuando está
 25 presente no altera la K_D de la insulina por INSR en más de 2 veces.

En una realización relacionada, el agonista alostérico muestra una respuesta alostérica máxima que es del 80 % o
 menor que la respuesta agonista máxima de la insulina, por ejemplo, del 15 %-80 %, 20-60 %, 20 %-40 % o del
 15 %-30 %. En determinadas realizaciones, los anticuerpos activan a INSR de manera constitutiva con una
 30 respuesta agonista máxima que es al menos aproximadamente del 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %; y hasta del
 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 % u 80 % de la respuesta agonista máxima de la insulina. Se entiende que cualquier combinación de cualquiera de estos extremos de intervalo está contemplada sin tener que recitar cada una de las combinaciones posibles.

La invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un antagonista alostérico del receptor de insulina y que
 35 se une al receptor de insulina y/o a un complejo que comprende insulina y receptor de insulina con una constante de equilibrio de disociación K_D de 10^{-5} m menos y que es capaz de debilitar la afinidad de unión entre la insulina y el receptor de insulina en al menos 3 veces, opcionalmente hasta 1000 veces. En una realización, el anticuerpo es capaz de debilitar la afinidad de unión entre la insulina y el receptor de insulina de 3 veces a 500 veces. Se
 40 contempla además que la modulación sea de al menos 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 16 veces, 17 veces, 18 veces, 19 veces o 20 veces, o hasta 100 veces, o hasta 90 veces, o hasta 80 veces, o hasta 70 veces, o hasta 60 veces, o hasta 50 veces, o hasta 40 veces, o hasta 30 veces, o hasta 20 veces, o hasta 10 veces. En algunas realizaciones, la afinidad de unión es una cualquiera de K_A , K_D , la relación de la velocidad de asociación dividida entre la velocidad de disociación, o la relación de la velocidad de disociación dividida entre la velocidad de asociación. En realizaciones
 45 ejemplares específicas, el anticuerpo reduce la K_A en el múltiplo deseado, o aumenta la K_D en el múltiplo deseado, o disminuye la relación de la velocidad de asociación a la velocidad de disociación en el múltiplo deseado, o aumenta la relación de la velocidad de disociación a la velocidad de asociación en el múltiplo deseado. En realizaciones ejemplares específicas, el anticuerpo reduce la velocidad de asociación o aumenta la velocidad de disociación.

En otra realización más, un anticuerpo que debilita la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión entre la insulina y el receptor de insulina comprende al menos una CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) expuesta en las SEC ID N°: 151-303. En una realización relacionada, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada madura de SEC ID N°: 151-303. Se contempla que cualquiera de los anticuerpos anteriores comprende una región constante humana o consenso humana o procedente de ser humano, por ejemplo, IgG1,
 55 IgG2, IgG3, o IgG4 o un híbrido de los mismos.

En una realización adicional, el anticuerpo que debilita la afinidad de unión entre la insulina y el receptor de insulina comprende al menos una CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2, o LCDR3) expuesta en las SEC ID N°: 1-150. En otra realización adicional más, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera madura de SEC ID N°: 1-150. Se contempla que cualquiera de los anticuerpos anteriores comprende además una región constante de cadena ligera kappa o lambda.

En una realización, el anticuerpo se une al receptor de insulina. En una realización relacionada, el anticuerpo se une a la subunidad α de INSR. En una realización adicional, el anticuerpo se une a la subunidad β de INSR. En otra
 65 realización más, el anticuerpo se une a las subunidades α y β del receptor. En una realización relacionada, el anticuerpo se une a un complejo de insulina/receptor de insulina. En otra realización, el anticuerpo que se une al

complejo insulina/INSR no se une de manera detectable al receptor de insulina solo, por ejemplo, en ausencia de insulina, o a insulina sola.

En otro aspecto, la invención proporciona un anticuerpo que se une específicamente al receptor de insulina y/o a un complejo que comprende insulina y receptor de insulina con una constante de equilibrio de disociación K_D de $10^{-5}M$ o menor, que comprende al menos una CDR de cadena pesada (HCDR1, HCDR2 y HCDR3) de las SEC ID N°: 151-303. En una realización relacionada, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada de SEC ID N°: 151-303. Se contempla que cualquiera de los anticuerpos anteriores comprende una región constante humana o procedente de ser humano, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4 o un híbrido de los mismos.

En una realización adicional, el anticuerpo que se une específicamente al receptor de insulina y/o a un complejo que comprende insulina y receptor de insulina con una constante de equilibrio de disociación K_D de $10^{-5}M$ o menor, comprende al menos una CDR de cadena ligera (LCDR1, LCDR2, o LCDR3) expuesta en las SEC ID N°: 1-150. En otra realización adicional más, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera de SEC ID N°: 1-150. Se contempla que cualquiera de los anticuerpos anteriores comprende además una región constante de cadena ligera kappa o lambda.

Además se contempla que cualquiera de los anticuerpos descritos anteriormente comprende una, dos, tres, cuatro, cinco o seis CDR. En una realización, el anticuerpo comprende una, dos o tres CDR de cadena pesada expuestas en las SEC ID N°: 151-303. En otra realización, el anticuerpo comprende una, dos o tres CDR de cadena ligera expuestas en las SEC ID N°: 1-150.

En una realización, el anticuerpo se une al receptor de insulina. En una realización relacionada, el anticuerpo se une a un complejo de insulina/INSR. En otra realización, el anticuerpo que se une al complejo insulina/INSR no se une de manera detectable al receptor de insulina solo o a insulina sola.

También se divulga en el presente documento un anticuerpo que fortalece la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de la insulina y el receptor de insulina y activa al receptor de insulina en al menos un 10 % de la señal máxima de insulina, opcionalmente en un ensayo de AKT fosforilada. En una realización relacionada, el INSR se activa en al menos un 11 %, 12 %, 13 %, 14 %, 15 %, 16 %, 17 %, 18 %, 19 %, 20 %, 25 %, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, u 80 % de la señal máxima de la insulina. En otra realización, el anticuerpo que fortalece la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de insulina/INSR activa con menos del 10 % de la señal máxima de insulina, opcionalmente en un ensayo de AKT fosforilada. En una realización relacionada, el INSR se activa en menos de un 9 %, 8 %, 7 %, 6 %, 5 %, 4 %, 3 %, 2 %, u 1 % de la señal máxima de la insulina. En algunas realizaciones, el INSR no se activa de manera detectable por el anticuerpo.

Se contempla además que el anticuerpo reduce los niveles de glucosa en ayuno, en un sujeto que tiene la glucosa en sangre elevada, hiperglucemia o un trastorno asociado con la resistencia a la insulina, hacia el intervalo normal de los niveles de glucosa. En una realización, el anticuerpo modulador positivo o agonista reduce los niveles de glucosa en sangre en ayuno en el sujeto en aproximadamente un 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 % o más.

En una realización, el anticuerpo se refiere a un anticuerpo o fragmento del mismo, o a un polipéptido que comprende un dominio de unión a antígeno de un anticuerpo. Los anticuerpos o fragmentos de anticuerpo ejemplares incluyen anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales, anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, anticuerpos humanos, anticuerpos multiespecíficos, fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, anticuerpos de dominio (dAb), fragmentos de región determinante de la complementariedad (CDR), anticuerpos con CDR injertadas, anticuerpos monocatenarios (scFv), fragmentos de anticuerpo monocatenarios, anticuerpos quiméricos, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, anticuerpos lineales; anticuerpos recombinantes quelantes, un tricuerpo o un bicuerpo, un intracuerpo, un nanocuerpo, un agente inmunofarmacéutico modular pequeño (SMIP), una proteína de fusión de dominio de unión a antígeno de inmunoglobulina, un anticuerpo camelizado, un anticuerpo que contiene VHH, o una variante o un derivado de los mismos, y polipéptidos que contienen al menos una porción de una inmunoglobulina que es suficiente para conferir unión a antígeno específica al polipéptido, tales como una, dos, tres, cuatro, cinco o seis secuencias de CDR. En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo monoclonal. En una realización relacionada, el anticuerpo es un anticuerpo humano.

En algunas realizaciones específicas, la invención excluye anticuerpos de roedor, es decir, anticuerpos producidos por un hibridoma de células de roedor (por ejemplo, murinas, de rata). Dichos anticuerpos, ya estén producidos por el hibridoma o de manera recombinante, tendrían un armazón de secuencia de aminoácidos de roedor y serían inmunogénicos si se administrasen a seres humanos. En algunas realizaciones específicas, la invención excluye a los anticuerpos de roedor divulgados en una cualquiera de las siguientes referencias, incorporadas por referencia en su totalidad: Soos et al, Biochem. J. 235: 199-208, 1986; Taylor et al, Biochem. J. 242: 123-129, 1987; Prigent et al, J. Biol. Chem. 265(17):9970-9977, 1990; Brindle et al, Biochem. J. 268: 615-620, 1990; Steele-Perkins y Roth, J. Biol. Chem. 265(16): 9458-9463, 1990; McKern et al, Nature 443(14): 218-221; Boado et al, Biotech and BioEng. 96(2): 381-391; documento WO04/050016; Roth et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 79: 7312-7316, 1982; Morgan et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 83: 328-332, 1986; Lebrun et al, J. Bl. Chem. 268(15): 11272-11277, 1993; Forsayeth et

al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84: 3448-3451, 1987; Forsayeth et al, J. Biol. Chem. 262(9): 4134-4140, Goodman et al, J. Receptor Res. 14(6-8), 381-398, 1994; Ganderton et al, Biochem J. 288: 195-205, 1992; Spasov et al. Bull. of Exp. Biol. and Med. 144(1): 46-48, 2007; documento EP 2 036 574 A1. Sin embargo, la invención puede incluir versiones humanizadas de dichos anticuerpos de roedor, métodos de tratamiento que usen dichos anticuerpos humanizados, y composiciones farmacéuticas estériles que comprenden dichos anticuerpos humanizados. En algunas realizaciones específicas, la invención excluye al anticuerpo humanizado 83-14 comunicado en Boado et al, Biotech and BioEng. 96(2): 381-391 en el documento WO04/050016.

En realizaciones ejemplares, la invención contempla:

un anticuerpo monoclonal que es un antagonista alostérico del receptor de insulina que retiene cualquiera de una, dos, tres, cuatro, cinco, o seis de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, o LCDR3 de una cualquiera de las SEC ID N°: 151-303 y las SEC ID N°: 1-150, respectivamente, incluyendo opcionalmente una o dos mutaciones en dichas CDR, por ejemplo, una sustitución conservativa o no conservativa, y opcionalmente emparejadas tal como se expone en la tabla 3;

un anticuerpo monoclonal que es un antagonista alostérico del receptor de insulina que retiene todas de HCDR1, HCDR2, HCDR3, o la región variable de cadena pesada de una cualquiera de las SEC ID N°: 151-303, incluyendo opcionalmente una o dos mutaciones en cualquiera de dichas CDR, que comprenden además opcionalmente cualquier región constante de cadena pesada, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, o IgE o un híbrido de las mismas.

Un anticuerpo monoclonal que es un antagonista alostérico del receptor de insulina que retiene todas de LCDR1, LCDR2, LCDR3, o la región variable de cadena ligera de una cualquiera de las SEC ID N°: 1-150, incluyendo opcionalmente una o dos mutaciones en cualquiera de dichas CDR, que comprenden además opcionalmente cualquier región constante de cadena ligera, por ejemplo, una región constante de cadena ligera kappa o lambda;

También se divulga una preparación purificada de un anticuerpo monoclonal, que comprende la región variable de cadena ligera y las regiones variables de cadena pesada tal como se exponen en las SEC ID N°: 1-303 y emparejadas tal como se expone en la tabla 3;

También se divulga un anticuerpo monoclonal que se une al mismo epítipo lineal o tridimensional de INRS que un anticuerpo que comprende una región variable expuesta en las SEC ID N°: 1-303, por ejemplo, tal como se determina mediante cristalografía de rayos X u otras técnicas biofísicas o bioquímicas, tales como espectrometría de masas de intercambio de deuterio, barrido de alanina y ELISA de fragmentos peptídicos;

También se divulga un anticuerpo monoclonal que compite con un anticuerpo que comprende una región variable expuesta en las SEC ID N°: 1-303, opcionalmente emparejada como en la tabla 3, para su unión a INSR humano en más de aproximadamente un 75 %, más de aproximadamente un 80 %, o más de aproximadamente un 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 % o 95 %.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende todas las tres CDR de cadena ligera, todas las tres CDR de cadena pesada, o todas las seis CDR de un anticuerpo que comprende una región variable expuesta en las SEC ID N°: 1-303. En algunas realizaciones ejemplares, pueden combinarse dos CDR de cadena ligera de un anticuerpo con una tercera CDR de cadena ligera de un anticuerpo diferente. Como alternativa, puede combinarse una LCDR1 de un anticuerpo con una LCDR2 de un anticuerpo diferente y una LCDR3 de otro anticuerpo más, en particular en los casos donde las CDR son altamente homólogas. De manera similar, pueden combinarse dos CDR de cadena pesada de un anticuerpo con una tercera CDR de cadena pesada de un anticuerpo diferente; o puede combinarse una HCDR1 de un anticuerpo con una HCDR2 de un anticuerpo diferente y una HCDR3 de otro anticuerpo más, en particular en los casos donde las CDR son altamente homólogas.

También pueden usarse CDR consenso. Puede combinarse cualquiera de las CDR consenso procedentes del presente documento con otras dos CDR de la misma cadena (por ejemplo, pesada o ligera) de cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento, por ejemplo, para formar una región variable de cadena pesada o ligera adecuada.

En otro aspecto, la divulgación proporciona variantes o derivados de los anticuerpos descritos en el presente documento. Por ejemplo, en una realización, el anticuerpo se marca con un resto detectable, tal como se describe en el presente documento. También se proporciona que el anticuerpo se conjugue a un resto hidrófobo descrito en el presente documento.

Las variantes de los anticuerpos incluyen anticuerpos que tienen una mutación o una alteración en una secuencia de aminoácidos proporcionada en el presente documento, incluyendo una inserción, eliminación o sustitución de aminoácidos, por ejemplo, una sustitución conservativa o no conservativa.

En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo que comprende un polipéptido que tiene una secuencia de

aminoácidos al menos un 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más idéntica a la región variable de cadena pesada expuesta en las SEC ID N°: 151-303 y/o una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente un 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más idéntica a la región variable de cadena ligera expuesta en las SEC ID N°: 1-150, comprendiendo el anticuerpo además al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o toras de CDRH1, CDRH2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 o CDRL3. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos con porcentaje de identidad respecto de la región variable de cadena ligera puede comprender una, dos o tres de las CDR de cadena ligera. En otras realizaciones, la secuencia de aminoácidos con porcentaje de identidad respecto de la región variable de cadena pesada puede comprender una, dos, o tres de las CDR de cadena pesada.

Se contempla que los anticuerpos de la invención pueden tener una, o dos o más sustituciones de aminoácidos en las regiones CDR del anticuerpo, por ejemplo, sustituciones conservativas.

También se divulgan anticuerpos donde están alterados restos del armazón. Las regiones marco conservadas de cadena pesada que pueden alterarse se encuentran dentro de las regiones denominadas H-FR1, H-FR2, H-FR3 y H-FR4, que rodean a los restos de CDR de cadena pesada, y los restos de las regiones marco conservadas de cadena ligera que pueden alterarse se encuentran dentro de las regiones denominadas L-FR1, L-FR2, L-FR3 y L-FR4, que rodean a los restos de CDR de cadena ligera. Puede reemplazarse un aminoácido dentro de la región marco conservada, por ejemplo, con cualquier aminoácido adecuado identificado en un armazón humano o en un armazón consenso humano.

La divulgación proporciona un polipéptido purificado que comprende una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de las SEC ID N°: 1-150 fusionadas a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de las SEC ID N°: 151-303, opcionalmente emparejadas como las regiones variables de cadena ligera/pesada expuestas en la tabla 3, o fragmentos de las mismas que incluyen al menos una porción de las SEC ID N°: 1-150 y las SEC ID N°: 151-303, opcionalmente emparejadas tal como se expone en la tabla 3, en el que el polipéptido se une al receptor de insulina, a insulina o al complejo de insulina/receptor de insulina.

Se contempla que los anticuerpos divulgados en el presente documento, incluyendo polipéptidos que comprenden todos o una parte de los fragmentos de unión a antígeno en una cualquiera de las SEC ID N°: 1-303, mantienen la afinidad de unión, por ejemplo, medida según la K_D , al receptor de insulina, a insulina o a un complejo de insulina/INSR de 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} M o menor (en el que un valor menor indica una mayor afinidad de unión), opcionalmente medida mediante resonancia de plasmón superficial.

En algunas de las realizaciones precedentes, la divulgación contempla un anticuerpo que se une al receptor de insulina y/o a un complejo que comprende insulina y receptor de insulina, con una constante de equilibrio de disociación K_D de 10^{-5} o menor, que es capaz de fortalecer la afinidad de unión entre la insulina y el receptor de insulina en aproximadamente de 5 veces a 500 veces. En una realización, el anticuerpo está caracterizado por las siguientes propiedades de unión de la constante de equilibrio de disociación K_D : (i) dicho anticuerpo se une con una constante de equilibrio de disociación K_D de aproximadamente 10^{-5} M, 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} M o menor, a un complejo que comprende insulina (C1) y receptor de insulina (C2); y (ii) cualquiera de $K_{[C1C2]A}$, $K_{[AC2]C1}$, o $K_{[AC1]C2}$ es al menos aproximadamente 5 veces menor que cualquiera de K_{AC2} o K_{AC1} . En una realización relacionada, cualquiera de $K_{[C1C2]A}$, $K_{[AC2]C1}$, o $K_{[AC1]C2}$ es de aproximadamente 5 veces a 200 veces menor que cualquiera de K_{AC2} o K_{AC1} .

En algunas realizaciones, el anticuerpo se une a un complejo de insulina/receptor de insulina. En realizaciones adicionales, el anticuerpo se une al receptor de insulina solo, en una forma no complejada. En una realización relacionada, el anticuerpo no se une de manera detectable al receptor de insulina solo, por ejemplo, en ausencia de insulina. En el presente documento se divulga un anticuerpo capaz de fortalecer la afinidad de unión entre insulina y el receptor de insulina en al menos aproximadamente 5 veces, opcionalmente hasta 200 veces, opcionalmente hasta 100 veces. Además se proporciona que en algunas realizaciones, la afinidad de unión es una cualquiera de K_A , K_D , la relación de la velocidad de asociación a la velocidad de disociación, o la relación de la velocidad de disociación a la velocidad de asociación.

En algunas realizaciones, para cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento, la diferencia en la afinidad de unión o en el parámetro de velocidad de unión varía desde aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 1000 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 500 veces, de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 100 veces, o de aproximadamente 2 veces a 25 veces, o de aproximadamente 2 veces a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 25 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 50 veces, de aproximadamente 5 veces a aproximadamente 500 veces, o de aproximadamente 5 veces a aproximadamente 200 veces, por ejemplo, al menos aproximadamente 1,5 veces, 2 veces, 3fold, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 16 veces, 17 veces, 18 veces, 19 veces o 20 veces, o hasta 500 veces, o hasta 200 veces, o hasta 150 veces, o hasta 100 veces, o hasta 90 veces, o hasta 80 veces, o hasta 70 veces, o hasta 60 veces, o hasta 50 veces, o hasta 40 veces, hasta 30 veces, hasta 20 veces, o hasta 10 veces, o

hasta 5 veces o hasta 3 veces.

En algunas realizaciones, la invención proporciona un anticuerpo agonista que se une al receptor de insulina con una afinidad, por ejemplo, K_D , de 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} M o menor, opcionalmente que muestra actividad agonista máxima que es del 20 % - 100 % de la actividad agonista máxima de la insulina cuando se mide en un ensayo de pAKT. En un aspecto relacionado, se desvela un anticuerpo agonista alostérico que se une al receptor de insulina con una afinidad, por ejemplo, K_D de 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} M o menos y (a) muestra actividad agonista máxima que es del 20 %-80 % de la actividad agonista máxima de la insulina cuando se mide en un ensayo de pAKT, (b) cuando está presente no altera la CE_{50} de la insulina por INSR en más de 2 veces o 3 veces, y (c) cuando está presente no altera la K_D de la insulina por INSR en más de 2 veces o 3 veces. Además se proporciona que en algunas realizaciones, la afinidad de unión es una cualquiera de K_A , K_D , la relación de la velocidad de asociación a la velocidad de disociación, o la relación de la velocidad de disociación a la velocidad de asociación.

Se contempla, en determinadas realizaciones, que cualquiera de los anticuerpos anteriores también puede mostrar actividad agonista débil, por ejemplo, activa al receptor de insulina en al menos un 10 % de la señal máxima de insulina, opcionalmente en un ensayo de AKT fosforilada. En una realización adicional, el anticuerpo activa al receptor de insulina en menos del 10 % de la señal máxima de insulina, opcionalmente en un ensayo de AKT fosforilada.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de región variable de cadena pesada madura expuestas en las SEC ID N°: 281, 278, 277, 209, 275, 223, 284, 276, y 236 y una región variable de cadena ligera seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias variables de cadena ligera madura expuestas en las SEC ID N°: 141, 138, 137, 35, 135, 57, 144, 136, y 98, opcionalmente emparejadas tal como se expone en la tabla 3.

La divulgación también proporciona un anticuerpo que comprende (a) la región variable de cadena pesada de cualquiera de Ab006, Ab030, Ab004, Ab013, Ab009, Ab007, Ab011, Ab001, Ab012, Ab010, Ab003, Ab008, Ab002, Ab005, Ab076, Ab077, Ab079, Ab080, Ab083, Ab059, Ab078, Ab085 o expuesta en las SEC ID N°: 291, 196, 239, 267 y 271 y la región variable de cadena ligera de cualquiera de Ab006, Ab030, Ab004, Ab013, Ab009, Ab007, Ab011, Ab001, Ab012, Ab010, Ab003, Ab008, Ab002, Ab005, Ab076, Ab077, Ab079, Ab080, Ab083, Ab059, Ab078, Ab085 o expuesta en las SEC ID N°: 76, 80, 101, 128, y 132, opcionalmente emparejadas tal como se expone en la tabla 3 y preferentemente las porciones maduras de las mismas, o (b) una, dos o tres CDR de cadena pesada de cualquiera de Ab006, Ab030, Ab004, Ab013, Ab009, Ab007, Ab011, Ab001, Ab012, Ab010, Ab003, Ab008, Ab002, Ab005, Ab076, Ab077, Ab079, Ab080, Ab083, Ab059, Ab078, Ab085 o expuesta en las SEC ID N°: 291, 196, 239, 267 y 271 y/o una, dos o tres CDR de cadena ligera de cualquiera de Ab006, Ab030, Ab004, Ab013, Ab009, Ab007, Ab011, Ab001, Ab012, Ab010, Ab003, Ab008, Ab002, Ab005, Ab076, Ab077, Ab079, Ab080, Ab083, Ab059, Ab078, Ab085 o expuesta en las SEC ID N°: 76, 80, 101, 128, y 132, incluyendo opcionalmente una o dos mutaciones en una cualquiera, dos o tres de dichas CDR de cadena pesada o ligera, por ejemplo, una sustitución conservativa o no conservativa, opcionalmente emparejadas tal como se expone en la tabla 3; o (c) todas las seis CDR de cualquiera de Ab006, Ab030, Ab004, Ab013, Ab009, Ab007, Ab011, Ab001, Ab012, Ab010, Ab003, Ab008, Ab002, Ab005, Ab076, Ab077, Ab079, Ab080, Ab083, Ab059, Ab078, Ab085 o de anticuerpos que tienen las regiones variables expuestas en las SEC ID N°: 76, 80, 101, 128, 132, 291, 196, 239, 267, y 271, opcionalmente emparejadas tal como se expone en la tabla 3.

También se divulga un anticuerpo que compite con cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento, por ejemplo, en al menos un 70 %, 75 %, u 80 %. En determinadas realizaciones, el anticuerpo muestra una competición mayor o igual del 70 %, por ejemplo, competición de al menos el 75 % o de al menos el 80 %, con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab079, Ab076, Ab083, Ab080, Ab062, Ab020, Ab019, Ab088, y Ab089, y muestra opcionalmente una competición mayor o igual al 30 % con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab086, Ab064, Ab001, y Ab018. De manera opcional, el anticuerpo no compite con uno o más de Ab062 y Ab086, y puede unirse opcionalmente al receptor de insulina o al complejo tanto humano como murino.

En una realización relacionada de la divulgación, el anticuerpo muestra una competición mayor o igual al 70 %, por ejemplo, competición de al menos el 75 % o de al menos el 80 %, con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab040, Ab062, Ab030, Ab001, y Ab018, y muestra opcionalmente una competición mayor o igual al 30 % con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab037, Ab078, Ab083, Ab080, y Ab085. En una realización relacionada, el anticuerpo no compite con uno cualquiera, dos, tres o más de los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab053, Ab064, 83-7, Ab019, Ab088, y Ab089. De manera opcional, el anticuerpo se une al receptor de insulina o al complejo tanto humano como murino. En otra realización, el anticuerpo muestra una competición mayor o igual del 70 %, por ejemplo, competición de al menos el 75 % o de al menos el 80 %, con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab064, Ab062, Ab085, y Ab078. De manera opcional, el anticuerpo no muestra competición con uno cualquiera, dos, tres o más de los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab077, Ab001, Ab018, Ab030, Ab037, Ab079, Ab076,

Ab083, Ab019, Ab088, Ab089, y Ab040. De manera opcional, el anticuerpo se une al receptor de insulina o al complejo tanto humano como murino.

En una realización, la invención proporciona un anticuerpo monoclonal que es un antagonista alostérico del receptor de insulina y que se une al receptor de insulina y/o a un complejo que comprende insulina y receptor de insulina con una constante de equilibrio de disociación K_D de 10^{-5} M o menos que es capaz de debilitar la afinidad de unión entre la insulina y el receptor de insulina en al menos 3 veces, opcionalmente hasta 1000 veces. En determinadas realizaciones, el anticuerpo debilita la afinidad entre dicha insulina y receptor de insulina de 3 veces a 500 veces. En algunas realizaciones, la afinidad de unión es una cualquiera de K_A , K_D , la relación de la velocidad de asociación a la velocidad de disociación, o la relación de la velocidad de disociación a la velocidad de asociación.

En algunas realizaciones, para cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento, la diferencia en la afinidad de unión o en el parámetro de velocidad de unión varía desde aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 1000 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 500 veces, de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 100 veces, o de aproximadamente 2 veces a 25 veces, o de aproximadamente 2 veces a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 25 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 50 veces, de aproximadamente 5 veces a aproximadamente 500 veces, o de aproximadamente 5 veces a aproximadamente 200 veces, por ejemplo, al menos aproximadamente 1,5 veces, 2 veces, 3fold, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 16 veces, 17 veces, 18 veces, 19 veces o 20 veces, o hasta 500 veces, o hasta 200 veces, o hasta 150 veces, o hasta 100 veces, o hasta 90 veces, o hasta 80 veces, o hasta 70 veces, o hasta 60 veces, o hasta 50 veces, o hasta 40 veces, hasta 30 veces, hasta 20 veces, o hasta 10 veces, o hasta 5 veces o hasta 3 veces.

En una realización relacionada, el anticuerpo aumenta la CE_{50} de la actividad de señalización de insulina de aproximadamente 2 veces a 1000 veces, opcionalmente en un ensayo de pAKT. En determinadas realizaciones, el anticuerpo aumenta la CE_{50} en al menos aproximadamente 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 150, 200, 250, 300, 350, 400, 450, 500, 550, 600, 650, 700, 750, 800, 850, 900, 950 o 1000 veces.

El anticuerpo puede comprender una región variable de cadena pesada seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de región variable de cadena pesada madura expuestas en las SEC ID N°: 241, 279, 258, 155, y 228 y una región variable de cadena ligera seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de región variable de cadena ligera madura expuestas en las SEC ID N°: 103, 139, 119, 8, y 89, opcionalmente emparejadas tal como se expone en la tabla 3.

El anticuerpo puede comprender (a) la región variable de cadena pesada de cualquiera de Ab087, Ab019, Ab088, Ab089, Ab020, Ab050, Ab052, Ab055, Ab057, Ab061, Ab063, Ab065, Ab070, Ab072, Ab074, Ab081 y la región variable de cadena ligera de cualquiera de Ab006, Ab019, Ab088, Ab089, Ab020, Ab050, Ab052, Ab055, Ab057, Ab061, Ab063, Ab065, Ab070, Ab072, Ab074, Ab081, preferentemente, las porciones maduras de las mismas, o (b) una, dos o tres CDR de cadena pesada de cualquiera de Ab087, Ab019, Ab088, Ab089, Ab020, Ab050, Ab052, Ab055, Ab057, Ab061, Ab063, Ab065, Ab070, Ab072, Ab074, Ab081 y/o una, dos o tres CDR de cadena ligera de cualquiera de Ab087, Ab019, Ab088, Ab089, Ab020, Ab050, Ab052, Ab055, Ab057, Ab061, Ab063, Ab065, Ab070, Ab072, Ab074, Ab081, incluyendo opcionalmente una o dos mutaciones en una cualquiera, dos o tres de dichas CDR de cadena pesada o ligera, por ejemplo, una sustitución conservativa o no conservativa; o (c) todas las seis CDR de cualquiera de Ab087, Ab019, Ab088, Ab089, Ab020, Ab050, Ab052, Ab055, Ab057, Ab061, Ab063, Ab065, Ab070, Ab072, Ab074, Ab081.

En una realización adicional, la invención proporciona un anticuerpo que muestra una competición mayor o igual del 70 %, por ejemplo, competición de al menos el 75 % o de al menos el 80 %, con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab079, Ab076, Ab083, Ab080, Ab062, y Ab020, Ab019, Ab088, Ab089. De manera opcional, el anticuerpo no muestra competición con uno cualquiera, dos, tres o más de los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab062, Ab086, Ab001, Ab018, Ab030, Ab037, Ab064; y opcionalmente, el anticuerpo solo es reactivo con ser humano, y no se une al receptor de insulina o al complejo murino.

En el presente documento se divulga un anticuerpo que es un agonista, en el que el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de región variable de cadena pesada madura expuestas en las SEC ID N°: 195, 220, 303, 197, 208, 243, 245 y 251 y una región variable de cadena ligera seleccionada entre el grupo que consiste en las secuencias de región variable de cadena ligera madura expuestas en las SEC ID N°: 77, 50, 90, 84, 34, 104, 106 y 112, opcionalmente emparejadas tal como se expone en la tabla 3.

También se divulga en el presente documento un anticuerpo que comprende (a) la región variable de cadena pesada de cualquiera de Ab021, Ab029, Ab022, Ab017, Ab023, Ab024, Ab025, Ab026, Ab031, Ab035, Ab027, Ab036, Ab037, Ab028, Ab038, Ab039, Ab040, Ab041, Ab042, Ab032, Ab043, Ab044, Ab045, Ab046, Ab047, Ab018, Ab033, Ab048, Ab014, Ab015, Ab049, Ab034, Ab051, Ab053, Ab054, Ab056, Ab058, Ab062, Ab064, Ab066, Ab067,

Ab068, Ab086, Ab069, Ab071, Ab073, Ab075, Ab082, Ab084 expuestos en las SEC ID N°: 252, 253, 263, 265 y 269 y la región variable de cadena ligera de cualquiera de Ab021, Ab029, Ab022, Ab017, Ab023, Ab024, Ab025, Ab026, Ab031, Ab035, Ab027, Ab036, Ab037, Ab028, Ab038, Ab039, Ab040, Ab041, Ab042, Ab032, Ab043, Ab044, Ab045, Ab046, Ab047, Ab018, Ab033, Ab048, Ab014, Ab015, Ab049, Ab034, Ab051, Ab053, Ab054, Ab056, Ab058, Ab062, Ab064, Ab066, Ab067, Ab068, Ab086, Ab069, Ab071, Ab073, Ab075, Ab082, Ab084 o expuestos en las SEC ID N°: 7, 113, 114, 124, 126 y 130, opcionalmente emparejadas tal como se expone en la tabla 3 y preferentemente las porciones maduras de las mismas, o (b) una, dos o tres CDR de cadena pesada de cualquiera de Ab021, Ab029, Ab022, Ab017, Ab023, Ab024, Ab025, Ab026, Ab031, Ab035, Ab027, Ab036, Ab037, Ab028, Ab038, Ab039, Ab040, Ab041, Ab042, Ab032, Ab043, Ab044, Ab045, Ab046, Ab047, Ab018, Ab033, Ab048, Ab014, Ab015, Ab049, Ab034, Ab051, Ab053, Ab054, Ab056, Ab058, Ab062, Ab064, Ab066, Ab067, Ab068, Ab086, Ab069, Ab071, Ab073, Ab075, Ab082, Ab084 o expuestos en las SEC ID N°: 252, 253, 263, 265 y 269 y/o una, dos o tres CDR de cadena ligera de cualquiera de Ab021, Ab029, Ab022, Ab017, Ab023, Ab024, Ab025, Ab026, Ab031, Ab035, Ab027, Ab036, Ab037, Ab028, Ab038, Ab039, Ab040, Ab041, Ab042, Ab032, Ab043, Ab044, Ab045, Ab046, Ab047, Ab018, Ab033, Ab048, Ab014, Ab015, Ab049, Ab034, Ab051, Ab053, Ab054, Ab056, Ab058, Ab062, Ab064, Ab066, Ab067, Ab068, Ab086, Ab069, Ab071, Ab073, Ab075, Ab082, Ab084 o expuestos en las SEC ID N°: 7, 113, 114, 124, 126 y 130, incluyendo opcionalmente una o dos mutaciones en una cualquiera, dos o tres de dichas CDR de cadena pesada o ligera, por ejemplo, una sustitución conservativa o no conservativa, opcionalmente emparejadas tal como se expone en la tabla 3; (c) todas las seis CDR de cualquiera de Ab021, Ab029, Ab022, Ab017, Ab023, Ab024, Ab025, Ab026, Ab031, Ab035, Ab027, Ab036, Ab037, Ab028, Ab038, Ab039, Ab040, Ab041, Ab042, Ab032, Ab043, Ab044, Ab045, Ab046, Ab047, Ab018, Ab033, Ab048, Ab014, Ab015, Ab049, Ab034, Ab051, Ab053, Ab054, Ab056, Ab058, Ab062, Ab064, Ab066, Ab067, Ab068, Ab086, Ab069, Ab071, Ab073, Ab075, Ab082, Ab084 o expuestos en las SEC ID N°: 7, 113, 114, 124, 126 y 130, incluyendo opcionalmente una o dos mutaciones en una cualquiera, dos o tres de dichas CDR de cadena pesada o ligera, por ejemplo, una sustitución conservativa o no conservativa, opcionalmente emparejadas tal como se expone en la tabla 3.

La divulgación también proporciona un anticuerpo que compite con los anticuerpos anteriores respecto de la unión a la diana, en los que el anticuerpo muestra una competición mayor o igual del 70 %, por ejemplo, competición de al menos el 75 % o de al menos el 80 %, con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab030, Ab037, Ab053, Ab001, Ab018, Ab064, Ab040 y muestra opcionalmente una competición mayor o igual al 30 % con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab085 y Ab086. De manera opcional, el anticuerpo no muestra competición con uno cualquiera, dos, tres o más de los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab079, Ab076 y Ab088; y opcionalmente se une al receptor de insulina o al complejo tanto humano como murino.

También se proporcionan polinucleótidos que codifican anticuerpos y polipéptidos, vectores que comprenden dichos polinucleótidos, células hospedadoras que comprenden dichos polinucleótidos o vectores, y métodos para producir anticuerpos y polipéptidos que comprenden cultivar dichas células hospedadoras en medio de cultivo en condiciones adecuadas y opcionalmente aislar el anticuerpo o polipéptido codificado a partir de las células hospedadoras o del medio de cultivo, opcionalmente seguido de purificación adicional del anticuerpo o polipéptido, por ejemplo, tal como se describe en el presente documento.

Los anticuerpos que tienen las propiedades descritas en el presente documento pueden aislarse usando un método de exploración para determinar la unión al INSR y la modulación del complejo insulina/INSR.

La divulgación también proporciona un anticuerpo modulador positivo que fortalece la unión de un primer componente (C1) a un segundo componente (C2) de un complejo de señalización, estando el anticuerpo caracterizado por las siguientes propiedades de unión de la constante de equilibrio de disociación K_D : (i) dicho anticuerpo se une con una constante de equilibrio de disociación K_D de aproximadamente 10^{-5} M o menor, por ejemplo, 10^{-6} M o menor, o 10^{-7} M o menor, o 10^{-8} M o menor, a uno cualquiera de C1, C2, o un complejo que comprende C1 y C2 (C1C2); y (ii) cualquiera de $K_{[C1C2]A}$, $K_{[AC2]C1}$, o $K_{[AC1]C2}$ es al menos aproximadamente un 50 % (1,5 veces) menor que cualquiera de K_{AC2} o K_{AC1} . En algunas realizaciones, cualquiera de $K_{[C1C2]A}$, $K_{[AC2]C1}$, o $K_{[AC1]C2}$ es de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 100 veces menor que cualquiera de K_{AC2} o K_{AC1} . o de aproximadamente 2 veces a 25 veces, o de aproximadamente 2 veces a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 25 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 50 veces, por ejemplo, al menos aproximadamente 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 16 veces, 17 veces, 18 veces, 19 veces o 20 veces, o hasta aproximadamente 100 veces, o hasta aproximadamente 90 veces, o hasta aproximadamente 80 veces, o hasta aproximadamente 70 veces, o hasta aproximadamente 60 veces, o hasta aproximadamente 50 veces, o hasta aproximadamente 40 veces, o hasta aproximadamente 30 veces, o hasta aproximadamente 20 veces, o hasta aproximadamente 10 veces menor. En algunas realizaciones, cualquiera de $K_{[C1C2]A}$, $K_{[AC2]C1}$, o $K_{[AC1]C2}$ es al menos aproximadamente 1,5 veces menor que ambos de K_{AC2} o K_{AC1} ; o de 1,5 veces a aproximadamente 100 veces menor, o de aproximadamente 2 veces a 25 veces, o de aproximadamente 2 veces a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 25 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 50 veces, por ejemplo, al menos aproximadamente 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 16 veces, 17 veces, 18 veces, 19 veces o 20 veces, o hasta aproximadamente 100 veces, o hasta aproximadamente 90 veces, o hasta aproximadamente 80 veces, o hasta aproximadamente 70 veces, o hasta aproximadamente 60 veces, o hasta aproximadamente 50 veces, o hasta aproximadamente 40 veces, o hasta

aproximadamente 30 veces, o hasta aproximadamente 20 veces, o hasta aproximadamente 10 veces menor.

También se proporciona un anticuerpo modulador negativo que debilita la unión de un primer componente (C1) a un segundo componente (C2) de un complejo de señalización, estando el anticuerpo caracterizado por las siguientes propiedades de unión de la constante de equilibrio de disociación K_D : (i) dicho anticuerpo se une con una constante de equilibrio de disociación K_D de aproximadamente 10^{-5} M o menor, por ejemplo, 10^{-6} M o menor, o 10^{-7} M o menor, o 10^{-8} M o menor, a uno cualquiera de C1, C2, o un complejo que comprende C1 y C2 (C1C2), y (ii) cualquiera de K_{AC2} o K_{AC1} es al menos aproximadamente un 50 % (1,5 veces) menor que cualquiera de $K_{[C1C2]A}$, $K_{[AC2]C1}$, o $K_{[AC1]C2}$. En algunas realizaciones, cualquiera de K_{AC2} o K_{AC1} es al menos aproximadamente 1,5 veces a 100 veces menor que cualquiera de $K_{[C1C2]A}$, $K_{[AC2]C1}$, o $K_{[AC1]C2}$; o de aproximadamente 2 veces a 25 veces, o de aproximadamente 2 veces a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 25 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 50 veces, por ejemplo, al menos aproximadamente 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13fold, 14 veces, 15 veces, 16 veces, 17 veces, 18 veces, 19 veces o 20 veces, o hasta aproximadamente 100 veces, o hasta aproximadamente 90 veces, o hasta aproximadamente 80 veces, o hasta aproximadamente 70 veces, o hasta aproximadamente 60 veces, o hasta aproximadamente 50 veces, o hasta aproximadamente 40 veces, o hasta aproximadamente 30 veces, o hasta aproximadamente 20 veces, o hasta aproximadamente 10 veces menor. En algunas realizaciones, cualquiera de K_{AC2} o K_{AC1} es al menos aproximadamente 1,5 veces menor que todos de $K_{[C1C2]A}$, $K_{[AC2]C1}$, o $K_{[AC1]C2}$; o de 1,5 veces a aproximadamente 100 veces menor, o de aproximadamente 2 veces a 25 veces, o de aproximadamente 2 veces a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 25 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 50 veces, por ejemplo, al menos aproximadamente 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 16fold, 17 veces, 18 veces, 19 veces o 20 veces, o hasta aproximadamente 100 veces, o hasta aproximadamente 90 veces, o hasta aproximadamente 80 veces, o hasta aproximadamente 70 veces, o hasta aproximadamente 60 veces, o hasta aproximadamente 50 veces, o hasta aproximadamente 40 veces, o hasta aproximadamente 30 veces menor, o hasta aproximadamente 20 veces, o hasta aproximadamente 10 veces.

En realizaciones específicas, C1 y C2 se seleccionan entre el grupo que consiste en insulina y receptor de insulina.

Tal como se expone en las reivindicaciones adjuntas, la invención contempla un método para preparar una composición farmacéutica estéril, que comprende añadir un diluyente farmacéuticamente aceptable estéril a un anticuerpo de la invención. Opcionalmente, también se incluyen pequeñas cantidades de un conservante, tal como un agente bactericida o bacteriostático en la composición.

También se contempla una composición estéril que comprende un anticuerpo de la invención y un diluyente farmacéuticamente aceptable estéril.

La presente divulgación contempla además que los anticuerpos de la invención modulen la unión entre el INSR e insulina o análogos de insulina o miméticos de insulina. Los anticuerpos divulgados en el presente documento también muestran preferentemente propiedades biológicas deseables, incluyendo, pero sin limitación, mejorar la captación de glucosa *in vitro* o *in vivo* en modelos animales, y preferentemente la captación de glucosa inducida por insulina exógena. En algunas realizaciones, los anticuerpos son capaces de aumentar la velocidad o la cantidad total de captación de glucosa, o ambas.

En un aspecto adicional, la divulgación contempla un método para tratar un trastorno asociado con la resistencia a insulina, que comprende administrar a un sujeto que lo necesite un anticuerpo modulador positivo o anticuerpo agonista divulgado en el presente documento en una cantidad eficaz para tratar la resistencia a la insulina. En una realización relacionada, el tratamiento mejora la captación de glucosa. En una realización adicional, la captación de glucosa mejorada se selecciona entre el grupo que consiste en un aumento en la velocidad de captación de glucosa, un aumento en la cantidad total de captación de glucosa, o ambas. Además se contempla que el tratamiento reduzca los niveles de glucosa en sangre en ayunas, en un sujeto que tiene niveles de glucosa en sangre elevados, hiperglucemia o un trastorno asociado con la resistencia a la insulina, de nuevo hacia el intervalo normal de los niveles de glucosa en sangre en ayunas. En una realización relacionada, la glucosa en sangre en ayunas se reduce en aproximadamente un 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 % o más en comparación con un sujeto no tratado.

En aspectos relacionados de la divulgación el tratamiento reduce los niveles elevados de HbA1c, que son un marcador de niveles elevados de glucosa durante el periodo de varios meses anterior, y son indicativos de diabetes. En realizaciones adicionales, el tratamiento mejora la tolerancia impedida a la glucosa. En una realización, la tolerancia a la glucosa se mide mediante una prueba de tolerancia a la glucosa (GTT).

En otras realizaciones de la divulgación el tratamiento frena, reduce, o normaliza el aumento de peso de un sujeto. En una realización, el tratamiento reduce o frena el aumento de peso en al menos un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o 50 % en comparación con un sujeto no tratado. En algunas realizaciones, el tratamiento frena, reduce, o normaliza la pérdida de peso de un sujeto. En una realización, el tratamiento reduce o frena la

pérdida de peso en al menos un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o 50 % en comparación con un sujeto no tratado.

En un aspecto relacionado, se contempla que los anticuerpos o los polipéptidos descritos en el presente documento promuevan o induzcan la pérdida de peso en un sujeto. En una realización, la divulgación proporciona un método para promover o inducir la pérdida de peso mediante la administración de un anticuerpo, un fragmento del mismo o un polipéptido modulador, tal como se describe en el presente documento. En una realización, el anticuerpo modulador es un modulador positivo o un agonista parcial. En una realización relacionada, el anticuerpo modulador es un modulador negativo.

En determinadas realizaciones de la divulgación el tratamiento da como resultado además la mejora de uno, dos, tres o más síntomas de la diabetes o la resistencia a la insulina seleccionados entre el grupo que consiste en dislipidemia, triglicéridos en plasma elevados, HOMA-IR elevado, colesterol no esterificado en plasma elevado, colesterol total en plasma, insulina en plasma elevada (indicativa de resistencia a la insulina), baja proporción de colesterol no de HDL/de HDL (o baja relación de colesterol total/colesterol de HDL), y niveles de leptina en plasma elevados (indicativos de resistencia a leptina).

Se proporciona además que los efectos del tratamiento se midan también usando análisis *in vitro* e *in vivo* usando factores tales como los descritos en la Descripción detallada.

En una realización de la divulgación el trastorno asociado con la resistencia a la insulina se selecciona entre el grupo que consiste en hiperglucemia, pre-diabetes, síndrome metabólico (también citado como síndrome de resistencia a la insulina), diabetes mellitus de tipo 2, enfermedad del ovario poliquístico (PCOS), enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD), esteatohepatitis no alcohólica (NASH), esteatosis, obesidad, dislipidemia, síndrome de Rabson-Mendenhall, síndrome de Donohue o leprecaunismo.

Tal como se expone en las reivindicaciones adjuntas, la invención proporciona un método para tratar una afección o trastorno asociado con la hiperinsulinemia, la producción anormal y/o sensibilidad a la insulina que se manifiesta como un exceso de señalización de insulina, que comprende administrar al sujeto que lo necesite un anticuerpo antagonista de la invención en una cantidad eficaz para tratar la sobreproducción y/o sensibilidad a la insulina. En una realización, el trastorno asociado con la sensibilidad a la insulina se selecciona entre el grupo que consiste en cáncer, sarcoma de Kaposi, insulinoma, enfermedad renal diabética, hipoglucemia, nesidioblastosis (enfermedad difusa de KATP-H1, enfermedad focal de KATP-H1, o "PHHI"), GDH-H1 (síndrome de hiperinsulinismo/hiperamoniemia (HI/HA), hipoglucemia sensible a leucina, o hipoglucemia sensible a diazóxido), síndrome de desregulación de células de islote, hipoglucemia idiopática de la infancia, hipoglucemia hiperinsulinémica persistente de la infancia (PHHI), e hiperinsulinismo congénito, sobredosis de insulina, hipoglucemia debido a insuficiencia renal (aguda o crónica), y enfermedad renal crónica, por ejemplo, de tipo III, IV o V.

También se contempla el uso de cualquiera de los anticuerpos o polipéptidos anteriores de la divulgación que modulan la interacción de señalización de insulina-INSR en la preparación de un medicamento para el tratamiento de cualquiera de los trastornos descritos en el presente documento. También se contempla el uso de jeringuillas, por ejemplo, jeringuillas de un solo uso o precargadas, envases sellados estériles, por ejemplo, viales, frascos, vasos y/o kits o paquetes que comprendan cualquiera de los anticuerpos o polipéptidos anteriores, opcionalmente con instrucciones adecuadas para su uso.

Puede administrarse cualquiera de los anticuerpos o polipéptidos anteriores divulgados en el presente documento de manera concurrente con cualquier agente antidiabético conocido en la técnica o descrito en el presente documento, como terapia adjunta. También se contemplan las composiciones que comprenden cualquiera de los anticuerpos o polipéptidos anteriores de la invención junto con otros agentes anti-diabéticos.

Se conocen en la técnica una serie de agentes antidiabéticos, incluyendo, pero sin limitación: 1) las sulfonilureas (por ejemplo, glimepirida, glisentida, sulfonilurea, AY31637); 2) las biguanidas (por ejemplo, metformina); 3) los inhibidores de alfa-glucosidasa (por ejemplo, acarbosa, miglitol); 4) las tiazolidindionas (por ejemplo, troglitazona, pioglitazona, rosiglitazona, glipizida, balaglitazona, rivoglitazona, netoglitazona, troglitazona, englitazona, AD 5075, T 174, YM 268, R 102380, NC 2100, NIP 223, NIP 221, MK 0767, ciglitazona, adaglitazona, CLX 0921, darglitazona, CP 92768, BM 152054); 5) péptidos similares a glucagón (GLP) y análogos de GLP o agonistas del receptor de GLP-1 (por ejemplo, exendina) o estabilizantes de los mismos (por ejemplo, inhibidores de DPP4, tales como sitagliptina); y 6) insulina o análogos o miméticos de la misma (por ejemplo, LANTUS®).

En un aspecto relacionado, la divulgación proporciona un método para diagnosticar la resistencia a la insulina o la sensibilidad a la insulina usando anticuerpos tal como se han descrito en el presente documento. En una realización, el método comprende medir los niveles de insulina o de receptor de insulina en una muestra de un sujeto usando un anticuerpo para el receptor de insulina descrito en el presente documento, en el que un nivel aumentado de insulina o de receptor de insulina libre, o un nivel disminuido de receptor de insulina unido a membrana indica que el sujeto tiene o está en riesgo de diabetes o de resistencia a la insulina, y opcionalmente administrar un agente terapéutico

para la diabetes a dicho sujeto que tiene o está en riesgo de diabetes o de resistencia a la insulina. En otra realización, el método comprende medir los niveles de receptor de insulina en una muestra de un sujeto usando un anticuerpo para el receptor de insulina descrito en el presente documento, en el que un nivel aumentado de receptor de insulina libre o un nivel disminuido de receptor de insulina unido a membrana indica que el sujeto tiene o está en riesgo de cáncer, y opcionalmente administrar un agente terapéutico para el cáncer a dicho sujeto.

En otro aspecto, la divulgación proporciona métodos para identificar anticuerpos que modulan la unión de insulina al receptor de insulina, tal como se han descrito en el presente documento.

Se entiende que cada característica o realización, o combinación, descrita en el presente documento es un ejemplo ilustrativo no limitante de cualquiera de los aspectos de la invención y, como tal, se pretende que pueda combinarse con cualquier otra característica o realización, o combinación, descrito en el presente documento. Por ejemplo, en los casos donde las características se describen con expresiones tales como "una realización", "algunas realizaciones", "realización adicional", "realizaciones ejemplares específicas", y/o "otra realización", cada uno de estos tipos de realizaciones es un ejemplo no limitante o una característica que está prevista para combinarse con cualquier otra característica, o combinación de características, descritas en el presente documento sin tener que enumerar cada combinación posible. Dichas características o combinaciones de características se aplican a cualquiera de los aspectos de la invención. De manera similar, en los casos donde un método describe la identificación de agentes de unión polipeptídicos, tales como anticuerpos, caracterizados por determinadas características, los agentes de unión polipeptídicos caracterizados por esas características también se contemplan por la invención. En los casos donde se divulgan ejemplos de valores que se encuentran dentro de intervalos, cualquiera de estos ejemplos se contemplan como posibles extremos de un intervalo, contemplándose cualquiera y todos los valores numéricos entre dichos extremos, y se prevén cualquiera y todas las combinaciones de extremos superiores e inferiores.

Breve descripción de las figuras

La figura 1 ilustra resultados representativos de una exploración de ocupación del receptor INSR que muestra anticuerpos de ensayo que se unen a células IM-9 que expresan el INSR en presencia y ausencia de insulina.

La figura 2 muestra resultados representativos de una exploración de ligando biotinilado que muestra los efectos de anticuerpos de ensayo en la unión de la insulina al receptor de insulina.

La figura 3 muestra resultados de un ensayo que mide la capacidad de los anticuerpos de ensayo para modular la fosforilación de pIRS-1 dependiente de insulina.

La figura 4 muestra resultados de un ensayo de actividad de pIRS-1 que muestra unión de anticuerpos representativos a INSR de diferentes clases funcionales. A) Moduladores positivos; B) Moduladores positivos con agonismo significativo; C) No moduladores; D) Anticuerpos agonistas; E) Moduladores negativos.

La figura 5 es una tabla que muestra valores de CE_{50} de insulina para anticuerpos representativos a partir del ensayo de pIRS-1 clasificados según la relación de CE_{50} de +Ab/-Ac.

La figura 6 muestra resultados de un ensayo de pAKT para anticuerpos representativos: A) Modulador positivo con agonismo muy bajo; B) Modulador positivo con agonismo; C) Anticuerpos agonistas; D) 83-7; E) Respuesta de insulina y de fondo en ausencia de anticuerpo.

La figura 7 es una tabla que muestra las propiedades de agonismo y de reactividad cruzada con ratón de anticuerpos de ensayo representativos. (nd = no determinado).

La figura 8 muestra resultados del ensayo de pAKT que muestran cambios en la sensibilidad (CE_{50} , cambio múltiplo en CE_{50}) y cooperatividad (pendiente de Hill) de la respuesta a la dosis efectuada por un anticuerpo modulador positivo de INSR a cuatro concentraciones diferentes. La figura 8A muestra los resultados gráficamente mientras que la figura 8B muestra los resultados en forma de tabla.

La figura 9 ilustra el potenciamiento de la captación de glucosa dependiente de insulina por un anticuerpo modulador positivo. La captación de ^3H -2-desoxiglucosa en células 3T3-L1 se indujo mediante insulina 0,8 nM en presencia de 10 $\mu g/ml$ de anticuerpo de ensayo Ab001 o de control de isotipo anti-KLH.

La figura 10 muestra los niveles de glucosa en sangre en ratones DIO de 20 semanas de edad alimentados con una dieta alta en grasa y tratados con anticuerpos anti-INSR agonistas parciales: A. Gráfico lineal de niveles de glucosa. B. Diagrama de barras de niveles de glucosa que muestra la reducción estadísticamente significativa en la glucosa en sangre después de la inyección de anticuerpo anti-INSR agonista parcial.

La figura 11 ilustra que la administración de un anticuerpo anti-INSR agonista parcial mejora el control glucémico en ratones DIO: A. Transcurso de tiempo de la prueba de tolerancia a la glucosa; B. Niveles de glucosa en

sangre en ayunas; C. Prueba de tolerancia a la glucosa; área bajo la curva (ABC).

La figura 12 muestra que un anticuerpo anti-INSR modulador positivo mejora la sensibilidad a la insulina en ratones DIO: A. Transcurso de tiempo de la prueba de tolerancia a la insulina; B. Niveles de glucosa en sangre en ayunas; C. Prueba de tolerancia a la insulina; área bajo la curva (ABC).

La figura 13 muestra que un anticuerpo anti-INSR modulador positivo mejora el control glucémico en ratones DIO: A. Transcurso de tiempo de la prueba de tolerancia a la glucosa; B. Niveles de glucosa en sangre en ayunas; C. Prueba de tolerancia a la glucosa; área bajo la curva (ABC).

La figura 14 demuestra que los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas parciales mejoran los niveles de triglicéridos y de colesterol en ratones DIO. Los niveles de triglicéridos y de colesterol en plasma se midieron en ratones DIO de 30 semanas a los que se había inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab037 o control de isotipo (10 mg/kg; * $p < 0,05$ en relación al control de isotipo/HFD): A. Niveles de triglicéridos en plasma; B. Niveles de colesterol en plasma.

La figura 15 ilustra la mejora en el control glucémico en ratones DIO después de la administración de anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas parciales. Se observaron las medidas de control glucémico en ratones DIO a los que se había inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab037, Ab083, Ab085 o control de isotipo (10 mg/kg; * $p < 0,05$ en relación al control de isotipo/HFD): A. Transcurso de tiempo de la prueba de tolerancia a la glucosa; B. Prueba de tolerancia a la glucosa; área bajo la curva (ABC); C. Niveles de glucosa en sangre en ayunas.

La figura 16 muestra que los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas parciales mejoran los parámetros glucémicos, la resistencia a la insulina y/o la dislipidemia en ratones DIO de 18 semanas de edad tratados con AcM durante 4 semanas. Se llevó a cabo el análisis del plasma de ratones DIO a los que se había inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab037, Ab083, Ab085 o control de isotipo durante 4 semanas (10 mg/kg; * $p < 0,05$ en relación al control de isotipo/HFD): A. Niveles de glucosa en plasma; B. Niveles de insulina en plasma; C. HOMA-IR; D. Niveles de triglicéridos en plasma; E. Niveles de colesterol no esterificado en plasma; F. Niveles de colesterol total en plasma; G. Niveles de colesterol no de HDL en plasma; H. Relación de colesterol no de HDL/HDL en plasma.

La figura 17 demuestra que los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas parciales reducen el aumento de peso en ratones DIO según se evalúa mediante medidas del peso corporal en ratones DIO de 18 semanas de edad a los que se había inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab037, Ab083, Ab085 o control de isotipo durante 3 semanas (10 mg/kg; * $p < 0,05$ en relación al control de isotipo/HFD): A. Cambio porcentual en el peso corporal en relación al peso antes de la dosificación; B. Cambio porcentual en el peso corporal en relación al peso antes de la dosificación: Área bajo la curva.

La figura 18 ilustra la normalización del peso corporal inducida por anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas parciales en ratones db/db analizada mediante mediciones del peso corporal en ratones db/db de 5 semanas de edad a los que se había inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001 (1 mg/kg o 10 mg/kg), Ab037 (10 mg/kg) o control de isotipo (1 mg/kg o 10 mg/kg) durante 14 semanas (* $p < 0,05$ en relación al control de isotipo): A. Cambio porcentual en el peso corporal en relación al peso antes de la dosificación hasta el día 35 del estudio; B. Cambio porcentual en el peso corporal en relación al peso el día 35 del estudio; C. Cambio porcentual en el peso corporal en relación al peso antes de la dosificación hasta el día 35 del estudio: Área bajo la curva; D. Cambio porcentual en el peso corporal en relación al peso el día 35 del estudio: Área bajo la curva.

La figura 19 muestra que el anticuerpo modulador positivo reduce la glucosa en sangre en ayunas y HbA1c en ratones db/db evaluado usando medidas del control glucémico en ratones db/db de 5 semanas de edad a los que se ha inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001 (1 mg/kg o 10 mg/kg), Ab037 (10 mg/kg) o control de isotipo (1 mg/kg o 10 mg/kg) durante 14 semanas (* $p < 0,05$ en relación al control de isotipo a la misma dosis): A. Niveles de glucosa en sangre en ayunas; B. Niveles de % de HbA1c.

La figura 20 ilustra que la administración de anticuerpo modulador positivo mejora la dislipidemia en ratones db/db. Se llevó a cabo el análisis del plasma de ratones db/db de 5 semanas de edad a los que se ha inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001 (1 mg/kg o 10 mg/kg), Ab037 (10 mg/kg) o control de isotipo (1 mg/kg o 10 mg/kg) durante 14 semanas (* $p < 0,05$ en relación al control de isotipo a la misma dosis): A. Niveles de insulina en plasma; B. Niveles de triglicéridos en plasma; C. Niveles de colesterol no esterificado en plasma; D. Niveles de colesterol total en plasma; E. Niveles de colesterol no de HDL en plasma; F. Relación de colesterol no de HDL/HDL en plasma.

La figura 21 muestra que la administración de anticuerpo modulador positivo reduce la glucosa en sangre en ayunas en ratones db/db. Evaluación de glucosa en sangre en ayunos semanal de ratones db/db de 5 semanas de edad a los que se ha inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001 (1 mg/kg o 10 mg/kg), Ab037 (10 mg/kg) o control de isotipo (1 mg/kg o 10 mg/kg) durante 14 semanas (* $p < 0,05$ para Ab085 en relación al control de

isotipo a la misma dosis).

La figura 22 ilustra que el anticuerpo modulador positivo mejora la resistencia a la insulina en ratones db/db según se evalúa mediante el análisis del plasma de ratones db/db de 5 semanas de edad a los que se ha inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab037, Ab083, Ab085 o control de isotipo durante 4 semanas (10 mg/kg; * $p < 0,05$ en relación al control de isotipo a la misma dosis) y muestra la evaluación de modelo homeostático para resistencia a la insulina (HOMA-IR) después de 4 semanas de dosificación.

La figura 23 ilustra que los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas parciales mejoran el control glucémico en ratones MLDS/HFD. Las medidas de control glucémico se tomaron de ratones MLDS/HFD de 10 semanas de edad a los que se había inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab037 o control de isotipo (10 mg/kg; * $p < 0,05$ en relación al control de isotipo): A. Transcurso de tiempo de la prueba de tolerancia a la glucosa; B. Prueba de tolerancia a la glucosa; área bajo la curva (ABC); C. Niveles de glucosa en sangre en ayunas.

La figura 24 muestra que la administración de un anticuerpo agonista parcial reduce la glucosa en sangre alimentada y HbA1c en ratones MLDS/HFD. Las medidas de control glucémico se tomaron en ratones MLDS/HFD de 10 semanas de edad a los que se había inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab037 o control de isotipo durante 6 semanas (10 mg/kg; * $p < 0,05$ en relación al control de isotipo): A. Niveles de glucosa en sangre alimentados; B. Niveles de % de HbA1c.

La figura 25 muestra que los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y/o agonistas parciales corrigen parcialmente los niveles de insulina, leptina y de colesterol no de HDL/HDL en ratones MLDS/HFD. Se midieron los niveles de colesterol en plasma, de insulina y de leptina en ratones MLDS/HFD de 10 semanas de edad a los que se había inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab037 o control de isotipo durante 6 semanas (10 mg/kg; * $p < 0,05$ en relación al control de isotipo): A. Relación de colesterol no de HDL/HDL en plasma; B. Niveles de insulina en plasma; B. Niveles de leptina en plasma.

La figura 26 ilustra que los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas parciales no afectan al peso corporal en ratones MLDS/HFD. Las medidas de peso corporal se tomaron en ratones MLDS/HFD de 10 semanas de edad a los que se había inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab037 o control de isotipo durante 6 semanas (10 mg/kg;) y los resultados se expresan como cambio porcentual en el peso corporal en relación al peso antes de la dosificación.

La figura 27 ilustra que los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas parciales mejoran el control glucémico en ratones MLDS/HFD. Se llevó a cabo una prueba de tolerancia a la glucosa (GTT) en ratones MLDS/HFD de 10 semanas de edad a los que se había inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab083, Ab085, Ab037 o control de isotipo durante 3 semanas (10 mg/kg; * $p < 0,05$ en relación al control de isotipo). A. Transcurso de tiempo de la prueba de tolerancia a la glucosa; B. Prueba de tolerancia a la glucosa; área bajo la curva (ABC).

La figura 28 muestra que los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas parciales mejoran el control glucémico en ratones MLDS/HFD según se determina por una evaluación semanal de glucosa en sangre en ayunas de ratones MLDS/HFD de 10 semanas de edad a los que se había inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab083, Ab085, Ab037 o control de isotipo durante 6 semanas (10 mg/kg; * $p < 0,05$ para Ab083 y Ab037 en relación al control de isotipo).

La figura 29 ilustra que los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas parciales mejoran la dislipidemia en ratones MLDS/HFD. Se llevó a cabo el análisis del plasma de ratones MLDS/HFD de 10 semanas de edad a los que se ha inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab083, Ab085, Ab037 o control de isotipo durante 6 semanas (10 mg/kg; * $p < 0,05$ en relación al control de isotipo). A. Niveles de triglicéridos en plasma; B. Niveles de ácidos grasos libres en plasma; C. Niveles de colesterol no esterificado en plasma; D. Niveles de colesterol total en plasma; E. Niveles de colesterol no de HDL en plasma; F. Relación de colesterol no de HDL/HDL en plasma.

La figura 30 muestra que los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas parciales mejoran el control glucémico (HbA1c) en ratones MLDS/HFD según se determina mediante una evaluación de Hb1Ac en sangre en ratones MLDS/HFD de 10 semanas de edad a los que se había inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab083, Ab085, Ab037 o control de isotipo durante 6 semanas (10 mg/kg; * $p < 0,05$ para Ab083 y Ab037 en relación al control de isotipo).

La figura 31 muestra que los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas parciales no afectan generalmente al peso corporal en ratones MLDS/HFD según se determina usando medidas de peso corporal en ratones MLDS/HFD de 10 semanas de edad a los que se había inyectado por vía intraperitoneal (IP) Ab001, Ab083, Ab085, Ab037 o control de isotipo durante 6 semanas (10 mg/kg).

La figura 32 muestra que los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas parciales aumentan la señalización de la insulina *in vivo*. Se inyectó a ratones C56BL/6 macho de diez semanas de edad Ab083, Ab085, Ab037 o control de isotipo (10 mg/kg) durante 24 horas, y se determinaron los efectos en el hígado (A) y músculo (B) de la fosforilación de INSR mediante ELISA tras un bolo de insulina.

La figura 33 es una tabla que muestra las características de unión de anticuerpos específicos de INSR reformateados con una región constante de IgG2.

La figura 34 ilustra la respuesta a la dosis de un anticuerpo anti-INSR agonista alostérico parcial en comparación con la respuesta a la dosis al ligando endógeno (A) o la activación por ligando en presencia o ausencia del anticuerpo agonista alostérico (B).

La figura 35 muestra la respuesta a la dosis de un anticuerpo modulador positivo en comparación con la respuesta a la dosis al ligando endógeno (A) o la respuesta a la dosis de un ligando endógeno en presencia y ausencia de un anticuerpo modulador positivo (B).

La figura 36 ilustra los parámetros de activación para un conjunto de agonistas alostéricos parciales solos en relación al ligando endógeno de insulina. Los datos se obtuvieron a partir de medidas de porcentaje de fosforilación de Akt en Ser473.

La figura 37 ilustra las propiedades de activación de insulina en presencia de 10 µg/ml de anticuerpos agonistas parciales en relación a la respuesta máxima al ligando endógeno en presencia de un anticuerpo de control negativo. Los datos se obtuvieron a partir de medidas de porcentaje de fosforilación de Akt en Ser473.

Las figuras 38-40 ilustran la activación de pAkt por anticuerpos en ausencia de insulina o en presencia de una concentración submáxima para células CHO-K1 progenitoras, células CHO-K1 que expresan receptor de insulina humano y células CHO-K1 que expresan receptor de insulina de ratón. Las figuras 38A-C muestran los efectos de Ac sensibilizantes (Ab077, Ab078, Ab085) con poco o ningún agonismo de la actividad de pAkt (activación de pAkt < 10 % en ausencia de insulina con 50 µg/ml de anticuerpo). Las figuras 39A-C muestran los efectos de Ac sensibilizantes (Ab001, Ab079, Ab083) con agonismo de débil a moderado de la actividad de pAkt (activación de pAkt del 10-20 % en ausencia de insulina con 50 µg/ml de anticuerpo). La figura 40 ilustra los efectos de un Ac sensibilizante (Ab080) con agonismo moderado de la actividad de pAkt (activación de pAkt > 20 % en ausencia de insulina con 50 µg/ml de anticuerpo).

La figura 41 muestra la activación de pAkt dependiente de insulina en células CHO que expresan el INSR humano (A y C) o de ratón (B) en presencia de concentraciones fijas de anticuerpos anti-INSR sensibilizantes.

La figura 42 demuestra la activación de pAkt en células CHO que expresan el INSR humano (A) o de ratón (B) por anticuerpos agonistas parciales alostéricos en ausencia de insulina en comparación con solo insulina.

La figura 43 representa los resultados de la activación de pAkt dependiente de insulina en células CHO que expresan el INSR humano en presencia de concentraciones fijas de anticuerpos agonistas parciales alostéricos.

La figura 44 muestra los resultados de un ensayo de pAKT para los anticuerpos 83-7 y Ab001 en células CHOK1 que expresan: (A) INSR humano, o; (B) INSR de ratón.

La figura 45 muestra el porcentaje de insulina libre representado contra la concentración estimada de receptor de insulina. El nivel de insulina se fijó a 50 pM y la concentración de anticuerpo fue de 10 µg/ml (67 nM) para todos los clones excepto para Ab078 que se ensayó a 25 µg/ml (167 nM). Las curvas mostradas son ajustes Prism de regresión no lineal usados para calcular la CE₅₀.

La figura 46 muestra el porcentaje de insulina libre representado contra la concentración estimada de receptor de insulina. El nivel de insulina se fijó a 50 pM y la concentración de anticuerpo fue de 10 µg/ml (67 nM) para todos los clones. Las curvas mostradas son ajustes Prism de regresión no lineal usados para calcular la CE₅₀.

La figura 47 muestra que el TNFα induce la desensibilización de la captación de ácidos grasos mediada por insulina en adipocitos 3T3-L1 en presencia del anticuerpo anti-INSR Ab085.

Las figuras 48 y 49 ilustran los efectos de los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos purificados Ab001, Ab037, Ab077, Ab079, Ab080, Ab083 en INSR humano (figura 48) e INSR de ratón (figura 49) medidos en el ensayo de pAKT.

Las figuras 50 y 51 demuestran el % de pAKT relativo de los anticuerpos agonistas purificados Ab037, Ab030, Ab053 y Ab062 en INSR humano (figura 50) e INSR de ratón (figura 51).

La figura 52 demuestra que los anticuerpos anti-INSR purificados Ab030, Ab037, Ab053, Ab001, Ab079, Ab080 y

Ab083 son capaces de inducir la fosforilación de AKT (% de AKT relativo) después de la activación de INSR de mono.

La figura 53 muestra el % de pAKT relativo de los anticuerpos moduladores negativos Ab061, Ab070 y Ab081 medido en células CHOK1 que expresan INSR humano.

La figura 54 es una tabla que muestra la reactividad cruzada de anticuerpos para el receptor de insulina, e ilustra que determinados anticuerpos que se unen al receptor de insulina humano también se unen al receptor de insulina de conejo y de cinomolgo y que esta unión estaba modulada por la presencia de insulina.

Descripción detallada

La invención se expone en las reivindicaciones adjuntas. En el presente documento se divulgan anticuerpos específicos para el receptor de insulina (INSR) o para el complejo de receptor de insulina-insulina y usos de los mismos en el tratamiento de trastornos relacionados con niveles de glucosa aberrantes, por ejemplo, hiperglucemia o hipoglucemia, niveles aberrantes de insulina o sensibilidad aberrante a la insulina, por ejemplo, trastornos de resistencia a la insulina o trastornos de sensibilidad a la insulina. Estos anticuerpos pueden inducir un efecto bien positivo o negativo en la respuesta celular en el INSR mediante la alteración de las constantes de velocidad cinética para el ensamblaje y la disociación de los componentes del complejo de señalización INSR-INS o por otros mecanismos, incluyendo la alteración del estado estructural del complejo de señalización, por ejemplo, mediante la unión a un estado transitorio y la aceleración de la activación de la señalización.

La modulación de un complejo de señalización puede dar como resultado un aumento o una disminución en la sensibilidad a la entrada de señal y a aumentos o disminuciones concomitantes en la transducción de señales. La administración de anticuerpos moduladores aumenta o reduce la sensibilidad de la ruta celular y/o los niveles absolutos de la respuesta celular. Los moduladores de la invención, dependiendo de sus propiedades, pueden funcionar como un modulador, potenciador, regulador, efector o sensibilizador.

Muchos fármacos de anticuerpos actúan bloqueando rutas de señalización uniéndose bien a un receptor de la superficie celular o a su ligando afín y eliminando la capacidad del ligando de unirse a y de activar el receptor. Dichos fármacos bloqueantes median su efecto estequiométricamente previniendo la formación del complejo receptor-ligando.

El tratamiento satisfactorio de algunas enfermedades puede requerir la atenuación en lugar de la inhibición completa de rutas de señalización para restaurar un estado fisiológico normal con perfiles de efectos secundarios aceptables. Se espera que los anticuerpos proporcionados por la invención proporcionen dichas ventajas.

Otros fármacos terapéuticos afectan a las rutas de señalización celular uniéndose a un receptor de la superficie celular y alterando la actividad del receptor. Dichos fármacos agonistas directos pueden mediar sus efectos imitando a la actividad natural del ligando y por lo tanto tienen actividad inherente, es decir, no requieren de la presencia de ligando para mediar sus efectos. Los fármacos terapéuticos adicionales afectan a las rutas de señalización celular uniéndose a un ligando. Dichos fármacos agonistas indirectos pueden mediar sus efectos alterando la estabilidad o valencia del ligando.

Los procesos biológicos están regulados generalmente de un modo continuo en lugar de binario, y por lo tanto en muchos casos la modulación de la actividad de una ruta puede ser una estrategia terapéutica más adecuada que el bloqueo completo o la estimulación de la ruta. Llevar a cabo exploraciones funcionales basadas en células para la modulación de la actividad de una ruta, en lugar de para el bloqueo o estimulación de la ruta completa, es laborioso y puede no llevarse a cabo fácilmente en un modo de alto rendimiento, ya que dichas exploraciones requieren generalmente de una concentración conocida de compuesto de ensayo y pueden ser sensibles a cualquier impureza en la preparación del compuesto de ensayo. En particular, la capacidad para llevar a cabo exploraciones funcionales basadas en células de alto rendimiento para la modulación de la actividad de una ruta está restringida a moléculas no permeables en las células que son incapaces de entrar en el ambiente intracelular, y especialmente para moléculas biológicas recombinantes que pueden tener diferentes niveles de expresión, grados de pureza y estabilidad en el sistema de producción usado. Además, algunas interacciones de unión pueden no tener una salida de señalización para medir en una exploración funcional (por ejemplo en el caso de receptores señuelo, sustratos señuelo, o formas inactivas de una diana) dificultando la identificación de agentes que perturben estas interacciones.

La presente divulgación supera estas desventajas y proporciona un medio para identificar moduladores positivos y negativos de la actividad de INSR y la potencia deseada del fármaco de un modo de alto rendimiento. También se proporcionan moduladores positivos y negativos de la actividad de INSR con un intervalo deseado de modulación de la actividad, y datos que demuestran que estos moduladores muestran el efecto biológico deseado de alterar la captación de glucosa.

Definiciones

El término "compuesto" se refiere a cualquier compuesto químico, orgánico o inorgánico, endógeno o exógeno, incluyendo, sin limitación, polipéptidos, proteínas, péptidos, moléculas pequeñas, ácidos nucleicos (por ejemplo, ADN y ARN), hidratos de carbono, lípidos, ácidos grasos, esteroides, purinas, pirimidinas, peptidomiméticos, policétidos y derivados, análogos estructurales o combinaciones de los mismos. "Endógeno" significa de origen natural en un mamífero, mientras que "exógeno" significa de origen no natural en el mamífero, por ejemplo, un compuesto exógeno administrado.

La expresión "agente de unión polipeptídico" se refiere a un polipéptido que es capaz de unirse específicamente a un antígeno, por ejemplo, una diana o su compañero de señalización, o que es capaz de unirse a un antígeno con una afinidad de unión medible. Los ejemplos de agentes de unión polipeptídicos incluyen anticuerpos, peptidocuerpos, polipéptidos y péptidos, opcionalmente conjugados a otros restos peptídicos o restos no peptídicos. Los antígenos a los que puede unirse un agente de unión polipeptídico incluyen cualquier molécula proteica o no proteica que es capaz de provocar una respuesta de anticuerpo, o que es capaz de unirse a un agente de unión polipeptídico con afinidad de unión detectable mayor que la unión no específica. El antígeno al que se une un agente de unión polipeptídico modulador puede incluir una diana, un compañero de señalización de una diana, y/o un complejo que comprende la diana y su compañero de señalización.

El término "anticuerpo" se usa en el sentido más amplio e incluye anticuerpos completamente ensamblados, anticuerpos tetraméricos, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multispecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos), fragmentos de anticuerpo que pueden unirse a un antígeno (por ejemplo, Fab', F(ab')₂, Fv, anticuerpos monocatenarios, diacuerpos), y péptidos recombinantes que comprenden a los anteriores siempre que muestren la actividad biológica deseada. Una "inmunoglobulina" o "anticuerpo tetramérico" es una glucoproteína tetramérica que consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, comprendiendo cada una una región variable y una región constante. Pueden producirse porciones de unión a antígeno mediante técnicas de ADN recombinante o mediante escisión enzimática o química de anticuerpos intactos. Los fragmentos de anticuerpo o las porciones de unión a antígeno incluyen, entre otras cosas, fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, anticuerpos de dominio (dAb), fragmentos de región determinante de la complementariedad (CDR), anticuerpos con CDR injertadas, anticuerpos monocatenarios (scFv), fragmentos de anticuerpo monocatenarios, anticuerpos quiméricos, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, anticuerpos lineales; anticuerpos recombinantes quelantes, un tricuerpo o un bicuerpo, un intracuerpo, un nanocuerpo, un agente inmunofarmacéutico modular pequeño (SMIP), una proteína de fusión de dominio de unión a antígeno de inmunoglobulina, un anticuerpo camelizado, un anticuerpo que contiene VHH, o una variante o un derivado de los mismos, y polipéptidos que contienen al menos una porción de una inmunoglobulina que es suficiente para conferir unión a antígeno específica al polipéptido, tales como una, dos, tres, cuatro, cinco o seis secuencias de CDR, siempre que el anticuerpo retenga la actividad biológica deseada.

"Anticuerpo monoclonal" se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos excepto por posibles mutaciones de origen natural que pueden estar presentes en cantidades menores.

"Variante de anticuerpo", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una secuencia polipeptídica de anticuerpo que contiene al menos una sustitución, eliminación o inserción de aminoácidos en la región variable de los dominios de región variable del anticuerpo natural. Las variantes pueden ser sustancialmente homólogas o sustancialmente idénticas al anticuerpo no modificado.

Un "anticuerpo quimérico", tal como se usa en el presente documento, se refiere a un anticuerpo que contiene secuencia procedente de dos anticuerpos diferentes (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos n.º 4.816.567) que se origina normalmente a partir de especies diferentes. Más normalmente, los anticuerpos quiméricos comprenden fragmentos de anticuerpo de ser humano y de roedor, generalmente regiones constantes humanas y variables de ratón.

Un "anticuerpo neutralizante" es una molécula de anticuerpo que es capaz de eliminar o reducir significativamente una función biológica de un antígeno al que se une. Por consiguiente, un anticuerpo "neutralizante" es capaz de eliminar o reducir significativamente una función biológica, tal como actividad enzimática, unión a ligando, o señalización intracelular.

Un anticuerpo "aislado" es uno que se ha identificado y separado y recuperado a partir de un componente de su ambiente natural. Los componentes contaminantes de su ambiente natural son materiales que pueden interferir con usos diagnósticos o terapéuticos del anticuerpo, y pueden incluir enzimas, hormonas, y otros solutos proteínicos o no proteínicos. En realizaciones preferidas, el anticuerpo se purificará (1) a más de del 95 % en peso de anticuerpo, según se determina mediante el método de Lowry, y más preferentemente a más del 99 % en peso, (2) a un grado suficiente para obtener al menos 15 restos de secuencia de aminoácido N-terminal o interna mediante el uso de un secuenciador de copa giratoria, o (3) hasta homogeneidad mediante SDS-PAGE en condiciones reductoras o no reductoras usando azul de Coomassie o preferentemente, tinción de plata. El anticuerpo aislado incluye el anticuerpo in situ dentro de células recombinantes, porque al menos un componente del ambiente natural del anticuerpo no

estará presente. Comúnmente, sin embargo, un anticuerpo aislado se preparará mediante al menos una etapa de purificación.

"Región variable de cadena pesada", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la región de la molécula de anticuerpo que comprende al menos una región determinante de la complementariedad (CDR) de dicho dominio variable de cadena pesada de anticuerpo. La región variable de cadena pesada puede contener una, dos, o tres CDR de dicha cadena pesada de anticuerpo.

"Región variable de cadena ligera", tal como se usa en el presente documento, se refiere a la región de una molécula de anticuerpo, que comprende al menos una región determinante de la complementariedad (CDR) de dicho dominio variable de cadena ligera de anticuerpo. La región variable de cadena ligera puede contener una, dos, o tres CDR de dicha cadena ligera de anticuerpo, que puede ser una cadena ligera kappa o lambda dependiendo del anticuerpo.

Tal como se usa en el presente documento, un anticuerpo que "se une específicamente" es "específico de antígeno", es "específico para" el antígeno diana o es "inmunorreactivo" con un antígeno se refiere a un anticuerpo o agente de unión polipeptídico divulgado en el presente documento que se une a un antígeno con mayor afinidad que otros antígenos de secuencia similar. En un aspecto, los agentes de unión polipeptídicos de la divulgación, o fragmentos, variantes, o derivados de los mismos, se unirán con mayor afinidad al antígeno humano en comparación con su afinidad de unión a antígenos similares de otra especie, es decir, no humana, pero también se divulgan agentes de unión polipeptídicos que reconocen y se unen a ortólogos de la diana.

Por ejemplo, un agente de unión polipeptídico que es un anticuerpo o un fragmento del mismo "específico para" su antígeno afín indica que las regiones variables de los anticuerpos reconocen y se unen al antígeno deseado con una preferencia detectable (por ejemplo, en los casos donde el antígeno deseado es un polipéptido, las regiones variables de los anticuerpos son capaces de distinguir al polipéptido antigénico de otros polipéptidos conocidos de la misma familia, por virtud de diferencias medibles en la afinidad de unión, a pesar de la posible existencia de identidad de secuencia localizada, homología, o similitud entre miembros de la familia). Se entenderá que los anticuerpos específicos también pueden interactuar con otras proteínas (por ejemplo, proteína A de *S. aureus* u otros anticuerpos en técnicas ELISA) mediante interacciones con secuencias fuera de la región variable de los anticuerpos, y en particular en la región constante de la molécula. Los ensayos de exploración para determinar la especificidad de unión de un agente de unión polipeptídico, por ejemplo, anticuerpo, para su uso en los métodos divulgados en el presente documento se conocen bien y se practican de manera rutinaria en la técnica. Para una discusión exhaustiva de dichos ensayos, véase Harlow et al. (Eds), *Antibodies A Laboratory Manual*; Cold Spring Harbor Laboratory; Cold Spring Harbor, NY (1988), Capítulo 6. Los anticuerpos pueden producirse usando cualquier método conocido en la técnica.

El término "epítipo" se refiere a aquella porción de cualquier molécula capaz de ser reconocida por y unirse a un agente de unión selectivo en una o más de las regiones de unión a antígeno. Los epítipos normalmente consisten en agrupaciones de superficie de moléculas químicamente activas, tales como, aminoácidos o cadenas laterales de hidratos de carbono, y tienen características estructurales tridimensionales específicas, así como características de carga específicas. Los epítipos, tal como se usan en el presente documento, pueden ser contiguos o no contiguos.

El término "derivado", cuando se usa en conexión con agentes de unión polipeptídicos y polipéptidos divulgados en el presente documento, se refiere a polipéptidos modificados químicamente mediante técnicas tales como ubiquitinación, conjugación a agentes terapéuticos o diagnósticos, marcaje (por ejemplo, con radionúclidos o diversas enzimas), unión covalente de polímeros, tal como pegilación (derivatización con polietilenglicol) e inserción o sustitución mediante síntesis química de aminoácidos, tales como ornitina, que normalmente no aparecen en proteínas humanas. Los derivados retienen las propiedades de unión de las moléculas no derivatizadas.

Un "resto detectable" o un "marcador" se refiere a una composición detectable por medios espectroscópicos, fotoquímicos, bioquímicos, inmunoquímicos, o químicos. Por ejemplo, los marcadores útiles incluyen ^{32}P , ^{35}S , tintes fluorescentes, reactivos densos a electrones, enzimas (por ejemplo, tal como se usa comúnmente en un ELISA), biotina-estreptavidina, digoxigenina, haptenos y proteínas para los que hay disponibles antiseros o anticuerpos monoclonales, o moléculas de ácido nucleico con una secuencia complementaria a otra molécula de ácido nucleico marcada. El resto detectable normalmente genera una señal medida, tal como una señal radiactiva, cromogénica, o fluorescente, que puede usarse para cuantificar la cantidad de resto detectable unido en una muestra.

Los "péptidos" u "oligopéptidos" son secuencias cortas de aminoácidos, normalmente de entre 3 y 100 restos de aminoácidos de longitud y abarcan restos de aminoácidos de origen natural y análogos de origen no natural de restos que pueden usarse individualmente o en combinación con restos de aminoácidos de origen natural para proporcionar al péptido una especificidad conformacional particular o una actividad biológica particular, tal como resistencia a la proteólisis. Los péptidos incluyen repeticiones de secuencias peptídicas y pueden incluir 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más copias de una secuencia de aminoácido dispuesta de cabeza a cola o de cola a cabeza. Los péptidos pueden conjugarse a restos no peptídicos, por ejemplo [expandir]. Los péptidos incluyen dímeros, trímeros o multímeros de mayor orden, por ejemplos, formados mediante conjugación a otros restos poliméricos o no

poliméricos, tales como PEG.

Los "polipéptidos" son secuencias de aminoácidos más largas, normalmente de 100 o más restos de aminoácidos de longitud, y abarcan restos de aminoácidos de origen natural y análogos de origen no natural de restos que pueden usarse individualmente o en combinación con restos de aminoácidos de origen natural para proporcionar al polipéptido una especificidad conformacional particular o una actividad biológica particular, tal como resistencia a la proteólisis.

Tal como se usa en el presente documento, un "peptidocuerpo" es un polipéptido de fusión que comprende uno o más péptidos fusionados a la totalidad o a una porción de una región constante de inmunoglobulina (Ig). Véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos n.º 6.660.843. El péptido puede ser cualquier péptido de origen natural o preparado de manera recombinante o sintetizado químicamente que se une al antígeno. El péptido puede estar repetido y puede incluir 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más copias de una secuencia de aminoácido dispuesta de cabeza a cola o de cola a cabeza. La porción de la región constante de Ig puede incluir al menos un dominio de región constante (por ejemplo, CH1, CH2, CH3, y/o CH4), dominios múltiples (por ejemplo, CH2 con CH3), múltiples copias de dominios (por ejemplo, CH2-CH2), cualquier fragmento de un dominio constante que retiene la actividad deseada, por ejemplo, el epítipo de receptor salvaje responsable de la semivida prolongada de las inmunoglobulinas en circulación, o cualquier combinación de los mismos.

Una molécula "pequeña" o una molécula orgánica "pequeña" se define en el presente documento como un compuesto químico orgánico no polimérico que tiene un peso molecular de aproximadamente 1000 Dalton o menos.

Tal como se usa en el presente documento, un "complejo de señalización" es un conjunto de proteínas y/o compuestos endógenos o exógenos que median la transducción de una señal celular. Los ejemplos de un complejo de señalización incluyen, pero sin limitación, un ligando unido a un receptor unido a membrana, una enzima unida a un sustrato o cualquier molécula celular que se asocia para propagar reacciones bioquímicas que están implicadas en una cascada de señales. Los complejos de señalización también pueden incluir correceptores, cofactores, proteínas almacén, moduladores alostéricos y otros numerosos tipos de proteínas y moléculas que están implicadas en la transducción de señales celulares. Los complejos de señalización pueden formarse de manera transitoria o tener vidas más largas. Los constituyentes o componentes moleculares de un complejo pueden variar con el tiempo y pueden ser dependientes del estado de activación de cada componente y del ambiente celular. Los complejos de señalización pueden someterse a modificación y regulación química que puede inducir un espectro de efectos en el complejo, incluyendo cambios sutiles en la actividad de transducción, la inactivación completa y la activación constitutiva o modulación tanto positiva como negativa.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se usa en el presente documento para indicar la cantidad de composición específica de diana de la presente divulgación que sea eficaz para mejorar o aminorar los síntomas o signos de enfermedad asociados con la señalización anormal (por ejemplo, anormalmente alta o anormalmente baja) del complejo de señalización.

Tal como se usa en el presente documento, "unión" es la asociación física entre dos o más entidades moleculares distintas que dan como resultado una red específica de interacciones no covalentes que consisten en una o más de las fuerzas débiles, incluyendo enlaces de hidrógeno, Van der Waals, ion-dipolo e interacciones hidrófobas y los enlaces iónicos fuertes. El nivel o grado de unión puede medirse en términos de afinidad. La afinidad es una medida de la fuerza de la interacción de unión entre dos o más entidades moleculares distintas que puede definirse mediante constantes de unión en equilibrio o parámetros cinéticos de velocidad de unión. Los ejemplos de constantes adecuadas y sus unidades de medida se conocen bien en la técnica e incluyen, pero sin limitación, constantes de equilibrio de asociación (K_A), por ejemplo, de aproximadamente $10^5 M^{-1}$ o mayores, de aproximadamente $10^6 M^{-1}$ o mayores, de aproximadamente $10^7 M^{-1}$ o mayores, de aproximadamente $10^8 M^{-1}$ o mayores, de aproximadamente $10^9 M^{-1}$ o mayores, de aproximadamente $10^{10} M^{-1}$ o mayores, de aproximadamente $10^{11} M^{-1}$ o mayores o de aproximadamente $10^{12} M^{-1}$ o mayores; constante de equilibrio de disociación (K_D), por ejemplo, de aproximadamente $10^{-5} M$ o menor, o de aproximadamente $10^{-6} M$ o menor, o de aproximadamente $10^{-7} M$ o menor, o de aproximadamente $10^{-8} M$ o menor, o de aproximadamente $10^{-9} M$ o menor, o de aproximadamente $10^{-10} M$ o menor, o de aproximadamente $10^{-11} M$ o menor, o de aproximadamente $10^{-12} M$ o menor; velocidad de asociación (por ejemplo, s^{-1} , mol^{-1}) y velocidad de disociación (por ejemplo, s^{-1}). En el caso de K_A , los valores más altos significan afinidad de unión "más fuerte" o "fortalecida" mientras que en el caso de K_D , los valores menores significan afinidad de unión "más fuerte" o "fortalecida". Tal como se usa en el presente documento, un parámetro de velocidad de unión "fortalecido" significa un tiempo de residencia aumentado, una asociación más fuerte o una disociación más débil. Tal como se usa en el presente documento, un parámetro de velocidad de unión "debilitado" significa un tiempo de residencia disminuido, una asociación más débil o una disociación más fuerte. En el caso de la velocidad de asociación, los valores mayores significan una asociación más rápida o más frecuente y por lo tanto dan como resultado generalmente una afinidad de unión fortalecida. En el caso de la velocidad de disociación, los valores menores significan generalmente una disociación más lenta y por lo tanto dan como resultado generalmente una afinidad de unión más fuerte. Sin embargo, la relación de la velocidad de asociación y la velocidad de disociación es la que indica la afinidad de unión, tal como se explica en más detalle posteriormente.

La afinidad entre dos compuestos, por ejemplo, entre un anticuerpo y un antígeno, o entre primeros y segundos componentes de un complejo de señalización, puede medirse de manera directa o indirecta. La medida o afinidad indirecta puede llevarse a cabo usando propiedades subrogadas que son indicativas de, y/o proporcionales a, la afinidad. Dichas propiedades subrogadas incluyen: la cantidad o nivel de unión de un primer componente a un segundo componente de un complejo de señalización, o una característica biofísica del primer componente o del segundo componente que sea predictiva de o que esté correlacionada con la afinidad de unión aparente del primer componente por el segundo componente. Los ejemplos específicos incluyen medir la cantidad o nivel de unión del primer componente a un segundo componente a una concentración por debajo de la de saturación de bien el primero o el segundo componente. Otras características biofísicas que pueden medirse incluyen, pero sin limitación, la carga molecular neta, la actividad rotacional, la velocidad de difusión, la temperatura de fusión, el direccionamiento electrostático, o la conformación de uno o ambos de del primer y el segundo componente. Otras características biofísicas más que pueden medirse incluyen la determinación de la estabilidad de una interacción de unión al impacto de variar la temperatura, el pH, o la fuerza iónica.

La afinidad medida es dependiente de las condiciones exactas usadas para efectuar la medición, incluyendo, entre otros factores, la concentración de los componentes de unión, la configuración del ensayo, la valencia de los componentes de unión, la composición del tampón, el pH, la fuerza iónica y la temperatura, así como los componentes adicionales añadidos a la reacción de unión, tales como moduladores y reguladores alostéricos. Pueden usarse métodos cuantitativos y cualitativos para medir la fuerza tanto absoluta como relativa de las interacciones de unión.

La afinidad aparente es una medida de la fuerza de la interacción de unión entre dos o más entidades moleculares distintas en condiciones donde se altera la afinidad mediante condiciones o componentes en la reacción de unión tales como moduladores alostéricos, inhibidores, valencia del componente de unión, etc.

Tal como se usa en el presente documento "una concentración por debajo de la de saturación" es una concentración de uno o más componentes en una reacción de unión que se encuentra por significativamente por debajo de la afinidad de unión K_D y/o una concentración de un componente en una reacción de unión que es menor de la necesaria para ocupar todos los sitios de unión del otro o de los otros componentes. En condiciones por debajo de la saturación, un porcentaje significativo de uno de los componentes de unión en la reacción de unión tiene sitios de unión disponibles.

Tal como se usa en el presente documento, un "ensayo biofísico" es cualquier método que mide, de manera absoluta o relativa, los parámetros de unión, asociación, disociación, afinidad de unión, nivel de unión, o velocidad de unión entre al menos dos compuestos. Generalmente se llevan a cabo ensayos biofísicos *in vitro* pueden llevarse a cabo con componentes de unión purificados, componentes no purificados, componentes asociados a células así como con una combinación de componentes purificados y asociados a células.

Un "agonista" es un término usado para describir un tipo de ligando o fármaco que se une y activa la señalización de un receptor. La capacidad para alterar la actividad de un receptor, también conocida como la eficacia del agonista, es una propiedad que lo distingue de los antagonistas, un tipo de ligando de receptor que también se une a un receptor pero que no activa la señalización del receptor. La eficacia de un agonista puede ser positiva, provocando un aumento en la actividad del receptor, o negativo, provocando una disminución en la actividad del receptor. Los agonistas completos se unen y activan un receptor, mostrando la eficacia completa de ese receptor. Los agonistas parciales también se unen y activan un receptor dado, pero solo tienen eficacia parcial en el receptor en relación con un agonista completo. Un agonista inverso es un agente que se une al mismo sitio de unión a receptor que un agonista para ese receptor y revierte la actividad constitutiva de los receptores. Los agonistas inversos ejercen el efecto farmacológico inverso al de un agonista de receptor. Los co-agonistas funcionan con otros co-agonistas para producir juntos el efecto deseado.

Los agonistas competitivos u ortostéricos se unen de manera reversible a los receptores en el mismo sitio de unión (sitio activo) que el ligando, compitiendo de este modo con el ligando para el mismo sitio de unión en el receptor.

En un aspecto distinto, los anticuerpos divulgados en el presente documento actúan como agonistas alostéricos. Se unen a una porción de INSR que es distinta del sitio activo de unión a insulina, y no cambian de manera apreciable la afinidad de unión de insulina e INSR en más de 2 veces. Tampoco afectan de manera apreciable a la CE_{50} de la activación del INSR por insulina, por ejemplo, alteran la CE_{50} en menos de 2 veces. Dichos anticuerpos activan de manera constitutiva al INSR con una respuesta agonista máxima que es del 80 % o menos de la respuesta agonista máxima de insulina, por ejemplo, del 15 %-80 %, 20-60 %, 20 %-40 % o del 15 %-30 %. En determinadas realizaciones, los anticuerpos activan a INSR de manera constitutiva con una respuesta agonista máxima que es al menos aproximadamente del 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %; y hasta del 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 % u 80 % de la respuesta agonista máxima de la insulina. Se entiende que cualquier combinación de cualquiera de estos extremos de intervalo está contemplada sin tener que recitar cada una de las combinaciones posibles. En algunas realizaciones, la respuesta agonista máxima se mide mediante ensayo Akt. En realizaciones adicionales, la divulgación proporciona un anticuerpo agonista alostérico que se une al receptor de insulina con una afinidad de al menos 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} M o menor. Sin quedar ligados a teoría alguna, la actividad

agonista débil de los agonistas alostéricos sirve para imitar el efecto de los niveles de secreción de insulina basales, a la vez que permiten que la insulina administrada de manera exógena tenga su efecto reductor de glucosa normal. En determinadas realizaciones, un agonista alostérico es un agonista alostérico parcial. Un antagonista bloquea la activación a un receptor de la activación por agonistas. Un agonista selectivo es selectivo para un tipo determinado de receptor. Además puede ser de cualquiera de los tipos anteriormente mencionados.

La potencia de un agonista se define normalmente por la inversa de su valor de CE_{50} . Esto puede calcularse para un agonista dado determinando la concentración de agonista necesario para provocar la mitad de la respuesta biológica máxima del agonista. Cuanto menor sea la CE_{50} , mayor será la potencia del agonista.

Un "antagonista" de receptor es un tipo de ligando de receptor o fármaco que no provoca una respuesta biológica por sí mismo tras la unión a un receptor, pero bloquea o reduce las respuestas mediadas por el agonista. Los antagonistas pueden tener afinidad pero no eficacia para sus receptores afines, y la unión alterará la interacción e inhibirá la función de un agonista o agonista inverso en los receptores. Los antagonistas median sus efectos uniéndose al sitio activo o a los sitios alostéricos en los receptores, o pueden interactuar en sitios de unión únicos no implicados normalmente en la regulación biológica de la actividad del receptor. La actividad antagonista puede ser reversible o irreversible dependiendo de la longevidad del complejo antagonista-receptor, que, a su vez, depende de la naturaleza de unión a receptor antagonista. La mayoría de los antagonistas logran su potencia compitiendo con ligandos o sustratos endógenos en sitios de unión definidos estructuralmente en los receptores.

Los antagonistas no muestran eficacia para activar los receptores a los que se unen. Una vez unidos, sin embargo, los antagonistas pueden inhibir la función de los agonistas, agonistas inversos y agonistas parciales. En ensayos antagonistas funcionales, una curva de respuesta a la dosis mide el efecto de la capacidad de un intervalo de concentraciones de antagonistas para revertir la actividad de un agonista. La potencia de un antagonista se define normalmente por su valor de CI_{50} . Esto puede calcularse para un antagonista dado determinando la concentración de antagonista necesario para provocar la mitad de la inhibición de la respuesta biológica máxima de un agonista. Cuanto menor sea la CI_{50} , mayor será la potencia del antagonista.

Los antagonistas competitivos u ortostéricos se unen de manera reversible a los receptores en el mismo sitio de unión (sitio activo) que el ligando o agonista, pero sin activar el receptor, compitiendo de este modo con el agonista para el mismo sitio de unión en el receptor. Los antagonistas no competitivos o alostéricos se unen a un sitio de unión separado al del agonista, ejerciendo su acción sobre ese receptor a través de ese sitio de unión separado. Por lo tanto, no compiten por la unión con los agonistas. Los antagonistas acompetitivos difieren de los antagonistas no competitivos en tanto que requieren de la activación del receptor por un agonista antes de que puedan unirse a un sitio de unión alostérico separado.

La "resistencia a la insulina" describe una afección en la que las cantidades fisiológicas de insulina no son adecuadas para producir una respuesta normal a la insulina por parte de células o tejidos.

Un "sensibilizador a la insulina" es un compuesto o fármaco que aumenta la sensibilidad celular o tisular a la insulina, dando como resultado mayores niveles de captación de glucosa para una concentración por debajo de la de saturación dada de insulina.

Ventajas

La presente invención se refiere al descubrimiento de que es posible desarrollar agentes terapéuticos que modulen al complejo de señalización insulina-INSR uniéndose a regiones extracelulares del INRS. Se emplean nuevos métodos de selección y exploración para identificar, por ejemplo, sensibilizadores a la insulina que se dirigen a regiones extracelulares del INSR y potencian la acción de la insulina. En particular, algunos de los anticuerpos identificados en el presente documento son anticuerpos no agonistas que se unen a regiones extracelulares del INSR y modulan positiva o negativamente el complejo de señalización insulina-INSR.

La presente divulgación abarca moduladores del complejo de señalización insulina-INSR que ofrecen ventajas únicas frente a las terapias existentes. Actúan al nivel del INSR, que debe permitir la inducción del intervalo completo de acciones de insulina a la vez que se minimizan efectos secundarios no deseados. Evitar el agonismo de INRS debe reducir el riesgo de hipoglucemia funcional. Además, puede lograrse un control más preciso de los niveles de glucosa. Por lo tanto, cuando aumentan los niveles de glucosa en sangre, dando lugar a una elevación de los niveles de insulina, dicho modulador podría tener un efecto mayor. Dirigirse a la región extracelular del INSR permite el uso de moléculas biológicas como moduladores del complejo de señalización insulina-INSR que modulan el efecto de la insulina endógena o exógena, análogos de insulina o miméticos de insulina; estos pueden tener ventajas, tales como semivida mejorada, dosis o frecuencia de la dosis reducidas, toxicidad reducida y mayor facilidad de fabricación. La presente divulgación abarca moduladores del complejo de señalización insulina-INSR que se espera que reduzcan la resistencia a la insulina periférica y mejoren el control glucémico. El efecto sensibilizante de los moduladores debe permitir niveles mejorados de captación de glucosa por tejidos periféricos en pacientes cuyos niveles de insulina no son lo suficientemente altos como para estimular la captación de glucosa adecuada en ausencia de terapia de insulina exógena. Por lo tanto, la administración de los anticuerpos divulgados

en el presente documento puede usarse en los estadios tempranos de la resistencia a la insulina en lugar de otros fármacos, o como terapia adjunta a otros agentes antidiabéticos. Cuando se administra como terapia adjunta a otros agentes antidiabéticos, los anticuerpos divulgados en el presente documento pueden reducir la cantidad diaria total de agente antidiabético necesaria para mantener niveles de glucosa en sangre más próximos al intervalo normal, o pueden reducir la frecuencia de dosificación del agente antidiabético, o pueden lograr el control glucémico mejorado con la misma dosis y/o frecuencia, por ejemplo, con menos episodios de hiperglucemia o un nivel reducido de hiperglucemia máxima (reducción en el nivel de glucosa aberrante máximo observado).

El receptor de insulina (INSR)

El INSR es un receptor de tirosina cinasa encontrado en organismos tan primitivos como los cnidarios e insectos. En organismos superiores, es esencial para la homeostasia de la glucosa. Los estudios en ratones *knockout* también han demostrado que el INSR es importante en la adipogénesis, la neovascularización, la regulación de la síntesis de glucosa hepática y la secreción pancreática de insulina inducida por glucosa (Kitamura et al, Ann. Rev. Physiol., 65: 313-332 2003). La señalización de INSR también es importante en el cerebro, donde está implicada en la regulación de la ingestión de alimentos, la deposición de grasa periférica y el eje reproductivo endocrino así como en el aprendizaje y la memoria (Wada et al, J. Pharmacol. Sci. 99: 128-143, 2005). La señalización disfuncional del INSR se ha implicado en enfermedades que incluyen la diabetes de tipo I y de tipo II, la demencia y el cáncer.

Los dominios del receptor de factor de crecimiento insulínico (IGFR-1) que está estrechamente relacionado muestran una elevada identidad de aminoácidos (47-67 %) con el INSR. Aunque tienen estructura similar, IGF-IR e INSR tienen cumplen diferentes funciones fisiológicas. IGF-IR se expresa en prácticamente todos los tejidos adultos normales salvo el hígado, que por sí mismo es el principal sitio de producción de IGF-1. INSR está implicado principalmente en funciones metabólicas mientras que IGF-IR media el crecimiento y diferenciación Adams et al, Cell. Mol. Life Sci. 57: 1050-1093, 2000).

INSR existe como dos isoformas de variantes de corte y empalme, INSR-A e INSR-B, que carecen o contienen respectivamente los 12 aminoácidos codificados por el exón 11. La variante más larga, INSR-B, es la isoforma responsable de las respuestas de señalización metabólicas. Por el contrario, INSR-A señala predominantemente respuestas mitogénicas, es la isoforma expresada preferencialmente en varios cánceres (Denley et al., Horm. Metab. Res. 35: 778-785, 2003) y es capaz de unirse al factor 2 de crecimiento insulínico (IGF-II) con alta afinidad (Denley et al, Mol. Endocrinol. 18: 2502-2512, 2004).

El INSR humano maduro es un homodímero que comprende dos subunidades α y dos subunidades β (cadenas). Las cadenas α y β están codificadas por un solo gen y surgen de la escisión postraduccional de un precursor de 1370 aminoácidos en un sitio de escisión de furina situado en los restos 720-723. La cadena α y los 194 restos de la cadena β comprenden la porción extracelular del INSR. Hay una sola secuencia transmembrana y un dominio citoplasmático de 403 restos que contiene una tirosina cinasa. La mitad N-terminal de cada monómero de ectodominio consiste en dos dominios de repetición ricos en leucina homólogos (L1 y L2) de aproximadamente 150 aminoácidos, separados por una región rica en cisteína (CR), también de aproximadamente 150 aminoácidos de tamaño. La mitad C-terminal de cada monómero de ectodominio (aproximadamente 460 restos) consiste en tres dominios de fibronectina de tipo III (FnIII-1, FnIII-2 y FnIII-3). El dominio FnIII-2 contiene un dominio insertado (ID) de aproximadamente 120 restos, dentro del cual se encuentra el sitio de escisión de furina que genera las cadenas α y β del receptor maduro. Intracelularmente, cada monómero contiene un dominio catalítico de tirosina cinasa flanqueado por dos regiones reguladoras (la región yuxtamembrana y la cola C) que contienen los sitios de unión de fosfotirosina para moléculas de señalización (Ward et al, Acta Physiol. 192: 3-9, 2008).

Los modelos actuales para unión de insulina proponen que, en estado basal, el homodímero de INSR contiene dos pares idénticos de sitios de unión (citados como Sitio 1 y Sitio 2) en cada homodímero (De Meyts, Bioessays, 26: 1351-1362, 2004). La unión de insulina a un sitio de baja afinidad (Sitio 1) en una subunidad α está seguida por un segundo evento de unión entre la insulina unida y una región diferente de la segunda subunidad α de INSR (Sitio 2). Este puenteo mediado por ligando entre dos subunidades α genera el estado de alta afinidad que da como resultado la transducción de señales. Por el contrario, el ectodominio soluble de INSR, que no está anclado en su extremo C-terminal, no puede generar el complejo receptor-ligando de alta afinidad. Puede unirse a dos moléculas de insulina simultáneamente en sus dos Sitios 1, pero solo con baja afinidad (Adams et al, Cell. Mol. Life Sci. 57: 1050-1093, 2000). Se cree que el Sitio 1 está compuesto de elementos de la β -lámina central del dominio L1 y los últimos 16 restos de la cadena α (citado como el péptido CT). El Sitio 2 incluye lo más probablemente los bucles en la unión de FnIII-1 y FnIII-2. Se cree que la unión de insulina implica cambios estructurales tanto en insulina como en su receptor (Ward y Lawrence, BioEssays 31: 422-434, 2009).

Una vez que una molécula de insulina se ha acoplado en el receptor y efectuado su acción, puede volver a liberarse en el ambiente extracelular o puede degradarse por la célula. La degradación normalmente implica la endocitosis del complejo insulina-INSR seguida de la acción de la enzima degradante de insulina. La mayoría de las moléculas de insulina se degradan por las células hepáticas. Se ha estimado que una molécula de insulina típica se degrada finalmente aproximadamente a los 71 minutos tras su liberación inicial en la circulación (Duckworth et al, Endocr. Rev. 19(5): 608-24, 1998).

Señalización de insulina

La insulina induce una red de moléculas de señalización, portando la información desde el INSR hasta las proteínas efectoras implicadas en el metabolismo y el crecimiento. La unión de insulina al INSR induce un cambio conformacional que promueve la activación de una actividad de tirosina cinasa intrínseca, dando lugar a la autofosforilación de la subunidad β del INSR. Las proteínas de sustrato receptor de insulina (IRS) se reclutan a la membrana plasmática a través de una interacción con el INSR fosforilado, y estas también se fosforilan en restos de tirosina, promoviendo el reclutamiento de proteínas de señalización adicionales al complejo, dando como resultado la señalización a través de dos rutas principales (1) la ruta de PI3 cinasa/PDK1/PKB que regula principalmente el metabolismo, con cierta influencia en el crecimiento y (2) la ruta mitogénica de Ras/ERK que regula principalmente el crecimiento celular.

Se ha comunicado que determinados análogos de insulina comercializados muestran actividades mitogénicas y anti-apoptóticas similares a IGF-1 en células cancerosas cultivadas, suscitando cuestiones acerca de su seguridad a largo plazo en seres humanos (Weinstein et al, Diabetes Metab Res Rev 25: 41-49, 2009). Por lo tanto, sería deseable obtener un agonista de INSR que no altere el equilibrio en la señalización metabólica frente a la mitogénica de INSR, o promuevan la señalización metabólica preferentemente sobre la señalización mitogénica de INSR.

Métodos para identificar anticuerpos que son moduladores

En el presente documento se divulgan métodos para identificar un agente de unión polipeptídico candidato, por ejemplo, un anticuerpo, que modula la unión entre primeros y segundos componentes de un complejo de señalización, por ejemplo, un receptor, tal como el receptor de insulina y su ligando, insulina.

Sin quedar ligados a teoría alguna, la presente divulgación proporciona que la perturbación cinética de una interacción entre dos componentes (primer componente, C1 y segundo componente, C2) de un complejo de señalización con un modulador (M) puede describirse matemáticamente como:

$$K'_{C1C2} = K_{C1C2} \frac{(1 + M/K_{MC1})(1 + M/K_{MC2})}{(1 + M/K_{C1C2M})}$$

donde el cambio en la constante de equilibrio de unión entre los componentes (K'_{C1C2}) es una función de la constante de equilibrio entre los componentes (K_{C1C2}), concentración de modulador (M), afinidad del modulador por el complejo (K_{C1C2M}) y afinidad del modulador por bien el primer componente (K_{MC1}) o por el segundo componente (K_{MC2}).

En los casos donde el complejo de señalización es un complejo receptor-ligando, y el modulador es un anticuerpo, la perturbación cinética de la interacción receptor-ligando con un anticuerpo puede describirse matemáticamente como:

$$K'_{RL} = K_{RL} \frac{\left(1 + \frac{A}{K_{AR}}\right) \left(1 + \frac{A}{K_{AL}}\right)}{\left(1 + \frac{A}{K_{RLA}}\right)}$$

donde el cambio en la constante de equilibrio de unión de receptor-ligando (K'_{RL}) es una función de la constante de equilibrio de receptor-ligando (K_{RL}), la concentración de anticuerpo (A), la afinidad del anticuerpo por el complejo (K_{RLA}) y la afinidad del anticuerpo bien por el receptor (K_{AR}) o por el ligando (K_{AL}).

Un modulador se une a la diana, o a su compañero de señalización, o a un complejo de la diana y compañero de señalización, de tal modo que la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de la diana por su compañero de señalización está debilitada o fortalecida. Por ejemplo, en los casos donde la diana es bien un receptor o un ligando, la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del ligando por su receptor se debilita o fortalece en presencia del modulador. Un modulador con actividad bloqueante completa representa una condición límite en este análisis, ya que cuando K_{C1C2M} es lo suficientemente alta, K'_{C1C2} tiende a infinito. Una implicación de este modelo es que el grado de modulación de la señalización es independiente de la concentración de modulador cuando la concentración de modulador ([M]) está suficientemente por encima de la constante de equilibrio de disociación (K_D) para que la interacción modulador/antígeno sea saturante para la unión al ligando. De este modo, la modulación de la interacción está relacionada con la proporción de afinidades para el complejo frente a los componentes, donde $[M] > K_D$ para el modulador y su antígeno.

La presente divulgación proporciona que las propiedades biofísicas de las interacciones de un modulador con una diana y/o su compañero de señalización pueden usarse para predecir el efecto funcional del modulador en la ruta de señalización de la diana. Los moduladores que alteran la ruta de señalización pueden identificarse, por lo tanto, basándose en su afinidad relativa por la diana (y/o su compañero de señalización) en forma complejada frente a la forma no complejada. La divulgación contempla que la perturbación cinética de una interacción entre dos componentes (primer componente, C1 y segundo componente, C2) de un complejo de señalización con un modulador (M) puede predecirse de la siguiente manera:

$K_{[C1C2]M}$ o $K_{[MC2]C1}$ o $K_{[MC1]C2} < K_{MC2}$ o K_{MC1} da lugar a modulación positiva
 $K_{[C1C2]M}$ o $K_{[MC2]C1}$ o $K_{[MC1]C2} = K_{MC2}$ o K_{MC1} no da lugar a modulación
 $K_{[C1C2]M}$ o $K_{[MC2]C1}$ o $K_{[MC1]C2} > K_{MC2}$ o K_{MC1} da lugar a modulación negativa

En los casos donde el complejo de señalización es un complejo de receptor(R)-ligando(L), y el modulador cinético es un anticuerpo (A), la perturbación cinética puede predecirse del siguiente modo:

$K_{[KL]A}$ o $K_{[AL]R}$ o $K_{[AR]L} < K_{AL}$ o K_{AR} da lugar a una modulación cinética positiva
 $K_{[RL]A}$ o $K_{[AL]R}$ o $K_{[AR]L} = K_{AL}$ o K_{AR} no da lugar a modulación cinética
 $K_{[RL]A}$ o $K_{[AL]R}$ o $K_{[AR]L} > K_{AL}$ o K_{AR} da lugar a una modulación cinética negativa

En algunas realizaciones, un modulador, tal como un anticuerpo (A) puede identificarse por su capacidad para alterar una interacción de unión, tal como una interacción receptor(R)-ligando(L) a cualquier concentración por debajo de la de saturación dada del primer o del segundo componente (por ejemplo, concentración de ligando (L)). Un anticuerpo o polipéptido modulador podría desplazar de manera eficaz la afinidad y la correspondiente respuesta a la dosis de la interacción receptor ligando desde la interacción de 500 pM a la de 10 pM (modulador positivo) o a la de 10 nM (modulador negativo) tal como se ilustra. En algunas realizaciones, el modulador producirá un nivel mayor de unión R-L a una concentración de ligando dada, desplazando la curva del ensayo hacia la izquierda (modulación positiva). En otras realizaciones, el modulador producirá un nivel menor de unión R-L a una concentración de ligando dada, desplazando la curva del ensayo hacia la derecha (modulación negativa). En algunas realizaciones, el desplazamiento es uniforme. En otras realizaciones, el desplazamiento no es uniforme, reflejando la implicación de otros factores, por ejemplo, proteínas accesorias en el complejo, internalización de receptor, etc.

Las propiedades de unión de las interacciones entre el modulador y la diana, su compañero de señalización y/o un complejo que comprende la diana y su compañero de señalización, son generalmente predictivas del efecto funcional del modulador cinético en la ruta de señalización de la diana. Dependiendo de la diana que se esté estudiando, otros factores determinados necesitan ser tomados en consideración. Estos incluyen: (1) la concentración del modulador cinético, la concentración de la diana, y/o la concentración de su compañero de señalización (por ejemplo, la predicción se optimiza si la concentración del modulador ([M]) es significativamente mayor que la K_D de la unión entre el modulador y su antígeno), (2) la forma estructural del modulador usado, por ejemplo, monovalente frente a divalente o bivalente, (3) reticulación inter/intra diana, que puede restringir la conformación de la diana y/o provocar la activación de la diana, (4) la capacidad del modulador para alterar el ensamblaje o acoplamiento, o para alterar componentes adicionales del complejo de señalización mediante mecanismos estéricos o alostéricos, (5) propiedades específicas de la ruta de señalización, tales como alteraciones en la ruta de señalización debido a la enfermedad que introduce un "cuello de botella", (6) regulación de retroalimentación negativa/positiva en la ruta de señalización, (7) alteración de las velocidades de eliminación/internalización de los componentes del complejo de señalización, (8) alteraciones en la diana que desacoplan o alteran de manera diferencial la unión al ligando y la activación, por ejemplo, un modulador potencia la unión al ligando pero atrapa a su receptor en un estado desensibilizado, o un modulador atenúa la unión al ligando pero induce un cambio conformacional en su receptor que es activante.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona métodos para medir la unión diferencial de un primer componente de un complejo de señalización por un segundo componente del complejo de señalización en presencia o ausencia de un agente polipeptídico de ensayo. En estos aspectos, se observa preferentemente unión diferencial cuando hay concentraciones por debajo de las de saturación del primer o el segundo componente. En algunas realizaciones preferidas, la concentración del primer o el segundo componente puede reducirse para proporcionar condiciones por debajo de las de saturación.

En algunos aspectos, la divulgación proporciona métodos para medir la unión diferencial de un agente de unión polipeptídico de ensayo, por ejemplo, anticuerpo, a la diana y/o su compañero de señalización, en forma complejada o no complejada. En estos aspectos, la unión diferencial se observa preferentemente cuando hay concentraciones por debajo de las de saturación de agente de unión polipeptídico de ensayo. En algunas realizaciones preferidas, la concentración del agente de unión polipeptídico de ensayo puede reducirse para proporcionar condiciones por debajo de las de saturación.

En algunas realizaciones, el ensayo en ausencia de un agente polipeptídico de ensayo se lleva a cabo usando un compuesto de control que es preferentemente un compuesto que pertenece a una clase estructural similar que el agente polipeptídico de ensayo, pero que se une a un antígeno diferente que no tiene efecto en el complejo de señalización que se está ensayando. Por ejemplo, un control para un anticuerpo de ensayo puede ser un anticuerpo de isotipo emparejado que se une a un antígeno no relacionado, por ejemplo, hemocianina de lapa californiana (KLH).

Para los moduladores positivos, a una concentración de C1 por debajo de la de saturación, la afinidad mayor de C1 se reflejará en una señal mayor de la unión de C1 a C2 en presencia del modulador positivo. La unión preferencial del modulador se reflejará en una señal mayor para el complejo que comprende C1 y C2, en comparación con la señal bien para C1 solo o para C2 solo. En algunos aspectos, puede haber unión del modulador al complejo de C1 y C2, pero no unión medible bien a C1 solo o a C2 solo.

Para los moduladores negativos, a una concentración de C1 por debajo de la de saturación, la afinidad menor de C1 se reflejará en una señal menor de la unión de C1 a C2 en presencia del modulador. La unión preferencial del modulador se reflejará en una mayor señal de unión del modulador a C1 solo, o a C2 solo, en comparación con la señal para la unión del modulador al complejo de C1 y C2.

En el presente documento se divulgan métodos para identificar un agente de unión polipeptídico candidato, por ejemplo, un anticuerpo, que modula la unión entre primeros y segundos componentes de un complejo de señalización. En algunas realizaciones, el primer y el segundo componente son polipéptidos. En realizaciones específicas ejemplares, el primero y el segundo componente son endógenos.

En un aspecto, los métodos para identificar un anticuerpo modulador candidato incluyen (a) medir una afinidad de unión o un parámetro de velocidad de unión de dicho primer componente por dicho segundo componente, en presencia de un agente de unión polipeptídico de ensayo, por ejemplo, anticuerpo, (b) medir una afinidad de unión o parámetro de velocidad de unión de dicho primer componente por dicho segundo componente en ausencia de dicho agente de unión polipeptídico de ensayo; y (c) identificar dicho agente de unión polipeptídico como fármaco modulador candidato cuando dicho agente de unión polipeptídico de ensayo muestra una diferencia del al menos 1,5 veces en la afinidad de unión o en el parámetro de velocidad de unión medido en las etapas (a) y (b). En algunas realizaciones, la diferencia en la afinidad de unión o en el parámetro de velocidad de unión varía desde aproximadamente 1,5 veces (es decir, del 50 %) a aproximadamente 1000 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 100 veces, o de aproximadamente 2 veces a 25 veces, o de aproximadamente 2 veces a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 25 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 50 veces.

En algunas realizaciones, el agente de unión polipeptídico de ensayo se identifica como un modulador positivo candidato si el agente polipeptídico de ensayo fortalece la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión entre dicho primer componente y dicho segundo componente. En otras realizaciones, el agente polipeptídico de ensayo se identifica como un modulador negativo candidato si el agente polipeptídico de ensayo debilita la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión entre dicho primer componente y dicho segundo componente.

Si un cambio (aumento o disminución) en un valor de afinidad de unión particular o un parámetro de velocidad de unión representa una afinidad de unión o parámetro de velocidad de unión "fortalecida" (o más fuerte) o "debilitada" (o más débil) depende del valor del parámetro y sus unidades, tal como se conoce en la técnica. Por ejemplo, en el caso del parámetro K_A , los valores mayores significan afinidad de unión "fortalecida", de tal forma que una K_A de aproximadamente $10^6 M^{-1}$ es más fuerte que una K_A de aproximadamente $10^5 M^{-1}$. Como otro ejemplo, en el caso del parámetro K_D , los valores menores significan afinidad de unión "fortalecida", de tal forma que una K_D de aproximadamente $10^{-6} M$ es más fuerte que una K_D de aproximadamente $10^{-5} M$. Por el contrario, en el caso de K_A , los valores menores significan afinidad de unión "debilitada", de tal forma que una K_A de aproximadamente $10^5 M^{-1}$ es una afinidad de unión debilitada en comparación con una K_A de aproximadamente $10^6 M^{-1}$. Como otro ejemplo, en el caso de K_D , los valores mayores significan afinidad de unión "debilitada", de tal forma que una K_D de aproximadamente $10^{-5} M$ es una afinidad de unión debilitada en comparación con una K_D de aproximadamente $10^{-6} M$.

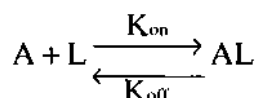
Tal como se usa en el presente documento, un parámetro de velocidad de unión "fortalecido" significa un tiempo de residencia aumentado, una asociación más fuerte o una disociación más débil. Tal como se usa en el presente documento, un parámetro de velocidad de unión "debilitado" significa un tiempo de residencia disminuido, una asociación más débil o una disociación más fuerte.

La afinidad de unión también puede determinarse mediante la relación de los parámetros de velocidad de unión de la velocidad de asociación y la velocidad de disociación. En general, en el caso de la velocidad de asociación, los valores mayores significan una asociación más rápida o más fuerte o un tiempo de residencia aumentado, y normalmente dan como resultado una afinidad de unión más fuerte. Por el contrario, los valores menores para la velocidad de disociación significan una asociación más lenta o más débil o un tiempo de residencia disminuido, y normalmente dan como resultado una afinidad de unión más débil. En general, en el caso de la velocidad de

disociación, los valores mayores significan una disociación más rápida o un tiempo de residencia reducido, y normalmente dan como resultado una afinidad de unión más débil. Por el contrario, los valores menores para la velocidad de disociación significan una disociación más lenta o un tiempo de residencia aumentado, y normalmente dan como resultado una afinidad de unión más fuerte. Esto se debe a que la relación de la velocidad de disociación a la velocidad de asociación, o de la velocidad de asociación a la velocidad de disociación, indica la afinidad de unión, tal como se muestra en las ecuaciones a continuación.

$$\text{Afinidad} \left\{ \begin{array}{l} K_D = \frac{[A][L]}{[AL]} = \frac{\text{velocidad de disociación}}{\text{velocidad de asociación}} \\ K_A = \frac{[AL]}{[A][L]} = \frac{\text{velocidad de asociación}}{\text{velocidad de disociación}} \end{array} \right.$$

10 donde



15 Incluso cuando la afinidad de unión no se altera de manera detectable o significativa, sin embargo, el cambio en el tiempo de residencia, es decir, un tiempo de residencia aumentado mediante una velocidad de asociación aumentada o una velocidad de disociación reducida, o un tiempo de residencia reducido mediante una velocidad de asociación disminuida o una velocidad de disociación aumentada, puede aún dar como resultado la activación diferencial de las rutas de señalización. Por ejemplo, en algunos casos, donde un receptor puede activar dos rutas diferentes, las rutas difieren en el grado de activación del receptor requerido para un efecto completo. Una ruta de señalización puede activarse completamente a bajos niveles de activación o tiempo de residencia del receptor, mientras que la activación completa de la segunda ruta requiere de niveles mayores de activación o tiempo de residencia del receptor.

25 La correlación predicha de las características de unión con el efecto funcional se ilustra en la tabla a continuación.

Características de unión a diana			Relaciones de K_D	Efecto funcional (cambio en ensayo de pAKT)
R	L	R-L		
-	-	+	$K_{[RL]A} < K_R, K_L$	Modulación positiva
-	+	+	$K_{[AL]R} < K_L$	Modulación positiva
+	-	+	$K_{[AR]L} < K_R$	Modulación positiva
-	+	+	$K_{[AL]R} > K_L$	Modulación negativa
+	-	+	$K_{[AR]L} > K_R$	Modulación negativa

Los ejemplos ilustrativos de datos que muestran que los efectos funcionales de los anticuerpos anti-INSR se correlacionan con sus características de unión se muestran en la siguiente tabla.

Ab	Características de unión a diana			Relaciones de K_D	Efecto funcional (ensayo de pAKT, múltiplo de disminución en CE_{50} de insulina en relación al Ac de control de isotipo) n.º
	R	L	R-L		
Predicho	-	-	+	$K_{[RL]A} < K_R, K_L$	Modulación positiva
Ab078	Fuera de intervalo*		3.4e-10		3,3
Ab085	Sin unión		2e-10		8,9
Predicho	+	-	+	$K_{[AR]L} < K_R$	Modulación positiva
Ab001	1.2e-8		1.16e-10	103,4	9,7
Ab079	9.6e-9		4.96e-10	19,4	6,7
Ab080	1.2e-8		6.8e-10	17,6	8,4
Ab083	7.6e-9		3.76e-10	20,2	8,5
Predicho	+	-	+	$K_{[AR]L} = K_R$	No moduladores
Ab037	1.08e-10		8e-11	1,4	Sin cambio
Ab053	1.48e-10		9.6e-11	1,5	Sin cambio

Ab062	1.24e-10		1.08e-10	1,1	Sin cambio

Por lo tanto, las propiedades de unión de las interacciones entre el modulador y la diana, su compañero de señalización y/o un complejo que comprende la diana y su compañero de señalización, son generalmente predictivos del efecto funcional del polipéptido modulador en la ruta de señalización de la diana.

5

En otro aspecto, los métodos para identificar un anticuerpo modulador candidato incluyen (a) (i) medir una afinidad de unión o parámetro de velocidad de unión de un agente de unión polipeptídico de ensayo, por ejemplo, anticuerpo, para dicho primer componente en presencia de dicho segundo componente, o (ii) medir una afinidad de unión o parámetro de velocidad de unión de un agente de unión polipeptídico de ensayo por dicho segundo componente en presencia de dicho primer componente; y (b) (i) medir una afinidad de unión o parámetro de velocidad de unión de dicho agente de unión polipeptídico de ensayo por dicho primer componente en ausencia de dicho segundo componente, o (ii) medir una afinidad de unión o parámetro de velocidad de unión de dicho agente de unión polipeptídico de ensayo por dicho segundo componente en ausencia de dicho primer componente; y (c) identificar dicho agente de unión polipeptídico de ensayo como un fármaco modulador cinético candidato cuando dicho agente de unión polipeptídico de ensayo muestra una diferencia de al menos 1,5 veces (es decir, del 50 %) en la afinidad de unión o parámetros de velocidad de unión medidos en las etapas (a) y (b).

En algunas realizaciones, el agente de unión polipeptídico de ensayo se identifica como un modulador positivo candidato si la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión medido en la etapa (a) es al menos 1,5 veces (es decir, un 50 %) más fuerte que la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión medido en la etapa (b). En realizaciones específicas, la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión medido en la etapa (a) comparado con el medido en la etapa (b) es de aproximadamente 1,5 veces (es decir, del 50 %) a aproximadamente 1000 veces más fuerte para la etapa (a) frente a la etapa (b), o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 100 veces, o de aproximadamente 2 veces a 25 veces, o de aproximadamente 2 veces a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 25 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 50 veces, por ejemplo, al menos 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 16 veces, 17 veces, 18 veces, 19 veces o 20 veces, o hasta 500 veces, o hasta 200 veces, o hasta 150 veces, o hasta 100 veces, o hasta 90 veces, o hasta 80 veces, o hasta 70 veces, o hasta 60 veces, o hasta 50 veces, o hasta 40 veces, hasta 30 veces, hasta 20 veces, o hasta 10 veces.

En otras realizaciones el agente de unión polipeptídico de ensayo se identifica como un modulador negativo candidato si la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión medido en la etapa (b) es al menos 1,5 veces (es decir, un 50 %) más fuerte que la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión medido en la etapa (a). En realizaciones específicas, la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión medido en la etapa (b) comparado con el medido en la etapa (a) es de aproximadamente 1,5 veces (es decir, del 50 %) a aproximadamente 1000 veces más fuerte para la etapa (b) frente a la etapa (a), o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 100 veces, o de aproximadamente 2 veces a 25 veces, o de aproximadamente 2 veces a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 25 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 50 veces, por ejemplo, al menos 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 16 veces, 17 veces, 18 veces, 19 veces o 20 veces, o hasta 500 veces, o hasta 200 veces, o hasta 150 veces, o hasta 100 veces, o hasta 90 veces, o hasta 80 veces, o hasta 70 veces, o hasta 60 veces, o hasta 50 veces, o hasta 40 veces, hasta 30 veces, hasta 20 veces, o hasta 10 veces.

En algunas realizaciones, se mide la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del agente de unión polipeptídico por el primer componente solo. En algunas realizaciones, se mide la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del agente de unión polipeptídico por el segundo componente solo.

En algunas realizaciones, el agente de unión polipeptídico de ensayo se identifica como un modulador positivo candidato si uno o más de la afinidad de unión o los parámetros de velocidad de unión seleccionados entre el grupo que consiste en (A) la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del agente de unión polipeptídico de ensayo que comprende el primer y el segundo componente, opcionalmente $K_{[C1C2]m}$, (B) la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del primer componente por un complejo que comprende el agente de unión polipeptídico y el segundo componente, opcionalmente $K_{[MC2]C1}$, o (C) la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del segundo componente por un complejo que comprende el agente de unión polipeptídico y el primer componente, opcionalmente $K_{[MC1]C2}$, es al menos 1,5 veces más fuerte que uno o más de la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de unión seleccionado entre el grupo que consiste en (1) la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del agente de unión polipeptídico de ensayo por el segundo componente solo, opcionalmente K_{MC2} o (2) la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del agente de unión polipeptídico de ensayo por el primer componente solo, opcionalmente K_{MC1} . En algunas realizaciones, la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión específico de uno cualquiera o más de (A), (B) o (C) es de aproximadamente 1,5 veces (es decir, del 50 %) a aproximadamente 1000 veces más fuerte que la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de uno cualquiera o más de (1) o (2); o como alternativa, de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 100 veces más fuerte, o de aproximadamente 2 veces a 25 veces, o de aproximadamente 2

- veces a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 25 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 50 veces, por ejemplo, al menos 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 16 veces, 17 veces, 18 veces, 19 veces o 20 veces, o hasta 500 veces, o hasta 200 veces, o hasta 150 veces, o hasta 100 veces, o hasta 90 veces, o hasta 80 veces, o hasta 70 veces, o hasta 60 veces, o hasta 50 veces, o hasta 40 veces, hasta 30 veces, hasta 20 veces, o hasta 10 veces. Por ejemplo, en algunas realizaciones, la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de uno cualquiera o más de (A), (B) o (C) es más fuerte que la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión tanto de (1) como de (2). En algunas realizaciones, la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de (1) es más fuerte que la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de (2). En otras realizaciones, la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de (2) es más fuerte que la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de (1). En algunas realizaciones, se miden y comparan dos o más de la afinidad de unión o de los parámetros de velocidad de unión, por ejemplo, velocidad de disociación y velocidad de asociación, o K_A y K_D , o cualquier combinación de los mismos.
- En realizaciones específicas, en las que la afinidad de unión medida es la constante de equilibrio de disociación K_D , cualquiera de $K_{[C1C2]M} > K_{[MC2]C1}$, o $K_{[MC1]C2}$ es menor, por ejemplo, de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor, que cualquiera de K_{MC2} o K_{MC1} . De manera similar, en los casos donde la afinidad de unión medida sea la velocidad de disociación, cualquiera de las velocidades de disociación entre (A) $[C1C2]$ y M, o (B) $[MC2]$ y C1, o (C) $[MC1]$ y C2 son menores, por ejemplo, de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menores, que cualquiera de las velocidades de disociación entre (1) M y C2 o (2) M y C1. En una realización ejemplar, $K_{[C1C2]M}$ es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor que K_{MC2} . En otra realización ejemplar, $K_{[MC2]C1}$ es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor que K_{MC2} . En otra realización ejemplar, $K_{[MC1]C2}$ es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor que K_{MC2} . En otra realización ejemplar, $K_{[C1C2]M}$ es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor que K_{MC1} . En otra realización ejemplar, $K_{[MC2]C1}$ es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor que K_{MC1} . En otra realización ejemplar más, $K_{[MC1]C2}$ es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor que K_{MC1} . Pueden preverse ejemplos similares para cada una de las velocidades de disociación entre (A) $[C1C2]$ y M, o (B) $[MC2]$ y C1, o (C) $[MC1]$ y C2, en comparación con cada una de las velocidades de disociación entre (1) M y C2 o (2) M y C1.
- Por el contrario, en los casos donde la afinidad de unión medida es la constante de equilibrio de asociación K_A , cualquiera de $K_{[C1C2]M}$, $K_{[MC2]C1}$, o $K_{[MC1]C2}$ es mayor, por ejemplo, de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor, que cualquiera de K_{MC2} o K_{MC1} . De manera similar, en los casos donde la afinidad de unión medida sea la velocidad de asociación, cualquiera de las velocidades de asociación entre (A) $[C1C2]$ y M, o (B) $[MC2]$ y C1, o (C) $[MC1]$ y C2 son mayores, por ejemplo, de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayores, que cualquiera de las velocidades de asociación entre (1) M y C1. En una realización ejemplar, $K_{[C1C2]M}$ es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor que K_{MC2} . En otra realización ejemplar, $K_{[MC2]C1}$ es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor que K_{MC2} . En otra realización ejemplar, $K_{[MC1]C2}$ es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor que K_{MC2} . En otra realización ejemplar, $K_{[C1C2]M}$ es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor que K_{MC1} . En otra realización ejemplar, $K_{[MC2]C1}$ es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor que K_{MC1} . En otra realización ejemplar más, $K_{[MC1]C2}$ es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor que K_{MC1} . Pueden preverse ejemplos similares para cada una de las velocidades de asociación entre (A) $[C1C2]$ y M, o (B) $[MC2]$ y C1, o (C) $[MC1]$ y C2, en comparación con cada una de las velocidades de asociación entre (1) M y C2 o (2) M y C1.
- En algunas realizaciones, el agente de unión polipeptídico de ensayo se identifica como un modulador negativo candidato si uno o más de la afinidad de unión o de los parámetros de velocidad de unión seleccionados entre el grupo que consiste en (1) la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del agente de unión polipeptídico por el segundo componente solo, opcionalmente K_{MC2} , o (2) la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del agente de unión polipeptídico de ensayo por el primer componente solo, opcionalmente K_{MC1} , es al menos 1,5 veces más fuerte que uno o más de la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión seleccionado entre el grupo que consiste en (A) la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del agente de unión polipeptídico de ensayo por un complejo que comprende al primer y al segundo componente, opcionalmente $K_{[C1C2]M}$, (B) la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del primer componente por un complejo que comprende el agente de unión polipeptídico y el segundo componente, opcionalmente $K_{[MC2]C1}$, o (C) la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del segundo componente por un complejo que comprende el agente de unión polipeptídico y el primer componente, opcionalmente $K_{[MC1]C2}$. En algunas realizaciones, la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión específico de uno cualquiera o más de (1) o (2) es aproximadamente 1,5 veces (es decir, del 50 %) a aproximadamente 1000 veces más fuerte que la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de uno cualquiera o más de (A), (B) o (C); o como alternativa, de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 100 veces más fuerte, o de aproximadamente 2 veces a 25 veces, o de aproximadamente 2 veces a aproximadamente 50 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 25 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 50 veces, por ejemplo, al menos 1,5 veces, 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, 9 veces, 10 veces, 11 veces, 12 veces, 13 veces, 14 veces, 15 veces, 16 veces, 17 veces, 18 veces, 19 veces o 20 veces, o hasta 500 veces, o hasta 200 veces, o hasta 150 veces, o hasta 100 veces, o hasta 90 veces, o hasta 80 veces, o hasta 70 veces, o hasta 60 veces, o hasta 50 veces, o hasta 40 veces, hasta 30 veces, hasta 20 veces, o hasta 10 veces. En algunas realizaciones, la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de cualquiera de (1) o (2) es más fuerte que la afinidad de unión o el parámetro de

velocidad de unión de todos de (A), (B) y (C). En algunas realizaciones, la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de (1) es más fuerte que la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de (2). En otras realizaciones, la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de (2) es más fuerte que la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión de (1). En algunas realizaciones, se miden y comparan dos o más de la

5 afinidad de unión o de los parámetros de velocidad de unión, por ejemplo, velocidad de disociación y velocidad de asociación, o K_A y K_D , o cualquier combinación de los mismos.

En realizaciones específicas, en donde la afinidad de unión medida es la constante de equilibrio de disociación K_D , cualquiera de K_{MC2} o K_{MC1} es menor, por ejemplo, de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor, que cualquiera de $K_{[C1C2]M}$, $K_{[MC2]C1}$, o $K_{[MC1]C2}$. De manera similar, en los casos donde la afinidad de unión medida sea la

10 velocidad de disociación, cualquiera de las velocidades de disociación entre (1) M y C2 o (2) M y C1 son menores, por ejemplo, de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menores, que cualquiera de las velocidades de disociación entre (A) [C1C2] y M, o (B) [MC2] y C1, o (C) [MC1] y C2. En una realización ejemplar K_{MC2} es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor que $K_{[C1C2]M}$. En otra realización ejemplar, K_{MC2} es de

15 aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor que $K_{[MC2]C1}$. En otra realización ejemplar, K_{MC2} es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor que $K_{[MC1]C2}$. En otra realización ejemplar, K_{MC1} es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor que $K_{[C1C2]M}$. En otra realización ejemplar, K_{MC1} es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor que $K_{[MC2]C1}$. En otra realización ejemplar más, K_{MC1} es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces menor que $K_{[MC1]C2}$. Pueden preverse ejemplos similares para cada una

20 de las velocidades de disociación entre (1) M y C2 o (2) M y C1, en comparación con cada una de las velocidades de disociación entre (A) [C1C2] y M, o (B) [MC2] y C1, o (C) [MC1] y C2.

Por el contrario, en los casos donde la afinidad de unión es la constante de equilibrio de asociación K_A , cualquiera de K_{MC2} o K_{MC1} es mayor, por ejemplo, de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor, que cualquiera de $K_{[C1C2]M}$, $K_{[MC2]C1}$, o $K_{[MC1]C2}$. De manera similar, en los casos donde la afinidad de unión medida sea la velocidad de asociación, cualquiera de las velocidades de asociación entre (1) M y C2 o (2) M y C1 son mayores, por ejemplo, de

25 aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayores, que cualquiera de las velocidades de asociación entre (A) [C1C2] y M, o (B) [MC2] y C1, o (C) [MC1] y C2. En una realización ejemplar K_{MC2} es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor que $K_{[C1C2]M}$. En otra realización ejemplar, K_{MC2} es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor que $K_{[MC2]C1}$. En otra realización ejemplar, K_{MC2} es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor que $K_{[MC1]C2}$. En otra realización ejemplar, K_{MC1} es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor que $K_{[C1C2]M}$. En otra realización ejemplar, K_{MC1} es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor que $K_{[MC2]C1}$. En otra realización ejemplar más, K_{MC1} es de aproximadamente 1,5 veces a 1000 veces mayor que $K_{[MC1]C2}$. Pueden preverse ejemplos similares para cada una de las velocidades de asociación entre (1) M y C2 o (2) M y C1, en

30 comparación con cada una de las velocidades de asociación entre (A) [C1C2] y M, o (B) [MC2] y C1, o (C) [MC1] y C2.

En determinadas realizaciones, el modulador es un anticuerpo y C1 y C2 se seleccionan entre el grupo que consiste en insulina y receptor de insulina.

En cualquiera de estas realizaciones, el agente de unión polipeptídico de ensayo y el segundo componente pueden ponerse en contacto con múltiples concentraciones diferentes de dicho primer componente. En cualquiera de estas realizaciones, el agente de unión polipeptídico de ensayo y el primer componente pueden ponerse en contacto con múltiples concentraciones diferentes de dicho segundo componente. En cualquiera de estas realizaciones, pueden

45 ponerse en contacto múltiples concentraciones diferentes del agente de unión polipeptídico de ensayo con dicho primer componente y dicho segundo componente.

Cuando se determina el efecto del agente de unión polipeptídico de ensayo en la interacción de unión entre el primer componente y el segundo componente, en algunas realizaciones específicas, cuando el antígeno para el agente de unión polipeptídico de ensayo es el primer componente, por ejemplo, ligando, el agente de unión polipeptídico de ensayo está a una concentración saturante en comparación con la concentración del primer componente. Como alternativa, cuando el antígeno para el agente de unión polipeptídico de ensayo es el segundo componente, por ejemplo, receptor, el agente de unión polipeptídico de ensayo está a una concentración saturante en comparación con la concentración del segundo componente. En algunas realizaciones, la concentración del agente de unión polipeptídico de ensayo es mayor o igual a la K_D del agente de unión polipeptídico de ensayo para un complejo que comprende el primer componente y el segundo componente. En realizaciones adicionales, la concentración del segundo componente es menor que la K_D del agente de unión polipeptídico de ensayo para el primer componente, por ejemplo, ligando. En otras realizaciones más, la concentración del primer componente, por ejemplo, ligando, está a una concentración menor de la de saturación para la unión del primer componente al segundo componente, por ejemplo, receptor. En algunas realizaciones, la concentración del primer componente, por ejemplo, ligando, se encuentra dentro del intervalo de aproximadamente CE_{20} a CE_{80} para la interacción del primer componente con el segundo componente. En algunas realizaciones, una o más concentraciones del agente de unión polipeptídico de ensayo se ponen en contacto con múltiples concentraciones diferentes del primer componente, por ejemplo, ligando, en presencia de una o más concentraciones del segundo componente, por ejemplo, receptor. En algunas

50 realizaciones, una o más concentraciones del agente de unión polipeptídico de ensayo se ponen en contacto con múltiples concentraciones diferentes del segundo componente, por ejemplo, receptor, en presencia de una o más

concentraciones del primer componente, por ejemplo, ligando.

Cuando se determina unión diferencial de agente de unión polipeptídico a diana complejada frente a complejada y/o compañero de señalización para determinar un modulador positivo, en algunas realizaciones, el agente de unión polipeptídico está a una concentración saturante para un complejo que comprende el primer componente y el segundo componente. En algunas realizaciones, la concentración de agente de unión polipeptídico de ensayo es mayor o igual a la K_D del agente de unión polipeptídico de ensayo para un complejo que comprende el primer componente, por ejemplo, ligando, y el segundo componente, por ejemplo, receptor. En realizaciones adicionales, la concentración del segundo componente, por ejemplo, receptor es mayor que la K_D del segundo componente, por ejemplo, receptor, por el primer componente, por ejemplo, ligando. En realizaciones adicionales, la concentración del primer componente, por ejemplo, ligando, es una concentración saturante para el segundo componente, por ejemplo, receptor. En otras realizaciones más, el agente de unión polipeptídico está a una concentración por debajo de la de saturación para un complejo que comprende el primer componente y el segundo componente. En algunas realizaciones, la concentración del agente de unión polipeptídico se encuentra dentro del intervalo de aproximadamente CE_{20} a CE_{80} para la interacción del primer componente con el segundo componente. En algunas realizaciones, la concentración del segundo componente, por ejemplo, receptor, es mayor que la K_D del segundo componente, por ejemplo, receptor, por el primer componente, por ejemplo, ligando. En algunas realizaciones, la concentración del primer componente, por ejemplo, ligando, es una concentración saturante para el segundo componente, por ejemplo, receptor.

Cuando se determina unión diferencial de agente de unión polipeptídico a diana complejada frente a complejada y/o compañero de señalización para determinar un modulador negativo, en algunas realizaciones, cuando el antígeno para el que el agente de unión polipeptídico de ensayo es el primer componente, por ejemplo, ligando, el agente de unión polipeptídico de ensayo se encuentra a una concentración por debajo de la de saturación para el primer componente. Cuando el antígeno para el que el agente de unión polipeptídico de ensayo es el segundo componente, por ejemplo, receptor, el agente de unión polipeptídico de ensayo se encuentra a una concentración por debajo de la de saturación para el segundo componente. En realizaciones adicionales, la concentración del agente de unión polipeptídico se encuentra dentro del intervalo de aproximadamente CE_{20} a CE_{80} para la interacción del primer componente con el segundo componente. En realizaciones adicionales, la concentración del segundo componente, por ejemplo, receptor, es mayor que la K_D del segundo componente, por ejemplo, receptor, por el primer componente, por ejemplo, ligando. En realizaciones adicionales, la concentración del primer componente, por ejemplo, ligando, es una concentración saturante para el segundo componente, por ejemplo, receptor.

En algunas realizaciones, los métodos incluyen además ensayar una diversidad de agentes de unión polipeptídicos de ensayo, por ejemplo, anticuerpos, respecto de la afinidad de unión para uno cualquiera de (a) el primer componente, (b) el segundo componente, o (c) un complejo que comprende el primer componente y el segundo componente. En algunas realizaciones específicas, los agentes de unión polipeptídicos tienen una afinidad de unión caracterizada, por ejemplo, por una constante de equilibrio de disociación K_D de aproximadamente 10^{-5} o menor, o de aproximadamente 10^{-6} M o menor, o de aproximadamente 10^{-7} M o menor, o de aproximadamente 10^{-8} M o menor, en donde una K_D menor significa una afinidad de unión más fuerte. En algunas realizaciones, la diversidad de agentes de unión polipeptídicos de ensayo explorada son variantes de un agente de unión polipeptídico progenitor producidas introduciendo una o más mutaciones diferentes en un agente de unión polipeptídico progenitor.

En realizaciones adicionales, los agentes de unión polipeptídicos pueden explorarse respecto de su selectividad o efecto por el primer o segundo componente, en comparación con un compañero de unión diferente, tal como un receptor señuelo, un receptor de eliminación, o un componente de la ruta de señalización alternativo. Dichos métodos pueden implicar identificar un agente de unión polipeptídico que no cambia significativamente la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del primer o el segundo componente por un compañero de unión diferente, no siendo dicho compañero de unión ni el primer ni el segundo componente. En algunas realizaciones, la presencia del agente de unión polipeptídico cambia la afinidad de unión o el parámetro de velocidad de unión del primer o el segundo componente para un compañero de unión diferente en no más de 5 veces, o no más de 10 veces, o no más de 20 veces, o no más de 30 veces, o no más de 40 veces, o no más de 50 veces.

Cualquiera de los métodos anteriores pueden incluir además medir el nivel de señalización mediada por el complejo de señalización en presencia o ausencia del agente de unión polipeptídico de ensayo, y determinar si el agente de unión polipeptídico de ensayo es además un agonista, agonista parcial, antagonista o antagonista parcial. El antagonismo o agonismo puede medirse en cualquier ensayo *in vitro* o *in vivo* conocido en la técnica, incluyendo, pero sin limitación, la señalización en un ensayo de fosforilación, ensayo de flujo de iones, ensayo de transporte molecular, o ensayo de expresión génica.

En algunas realizaciones, el agente de unión polipeptídico de ensayo desplaza (positiva o negativamente) la curva de respuesta a la dosis de la interacción del primer componente, por ejemplo, ligando, con el segundo componente, por ejemplo, receptor. El desplazamiento puede manifestarse como una CE_{50} aumentada o disminuida en al menos aproximadamente 1,5 veces, por ejemplo, de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 100 veces. En algunas realizaciones, el agente de unión polipeptídico de ensayo no cambia significativamente la respuesta

agonista máxima de la señal producida por la interacción de los componentes primero y segundo del complejo de señalización. En otras realizaciones, el agente de unión polipeptídico de ensayo actúa por sí mismo como un antagonista (por ejemplo, reduce la respuesta agonista máxima de la señalización producida por dicho complejo de señalización) o como agonista (por ejemplo, aumenta la respuesta agonista máxima de la señalización producida por dicho complejo de señalización).

En los casos donde el agente de unión polipeptídico de ensayo actúa como un antagonista o antagonista parcial, puede reducirse la respuesta agonista máxima, por ejemplo, de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 100 veces, o de aproximadamente 2 veces a aproximadamente 25 veces, o de aproximadamente 1,5 veces a aproximadamente 50 veces; o reducirse en aproximadamente un 10 %, 25 %, 50 % (1,5 veces), 75 %, 2 veces, 3 veces, o 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces. Como alternativa, en los casos donde el agente de unión polipeptídico de ensayo actúa como un agonista o agonista parcial, puede aumentarse la respuesta agonista máxima, por ejemplo, en al menos aproximadamente un 10 %, 25 %, 50 % (1,5 veces), 75 %, 2 veces, 3 veces, o 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 veces. Además, cuando el agente de unión polipeptídico de ensayo actúa como un antagonista o antagonista parcial, la IC_{50} puede ser de 1×10^{-5} o menor. El agente de unión polipeptídico de ensayo puede mostrar características deseables adicionales, por ejemplo, el agente de unión polipeptídico de ensayo no disminuye de manera significativa la eliminación de dicho primer componente, o dicho segundo componente, o dicho complejo de señalización que comprende dichos componentes primero y segundo.

Los métodos para identificar agentes moduladores, por ejemplo, agentes moduladores cinéticos, se describen además en la Solicitud de Patente de Estados Unidos n.º 61/246.079 de cesión común pendiente junto con la presente, presentada el 25 de septiembre de 2009, la Solicitud de Patente de los Estados Unidos n.º 61/306.324, presentada el 19 de febrero de 2010, y la Solicitud Internacional de Patente n.º presentada el 24 de septiembre de 2010 (Expediente n.º 27129/41726).

El agente de unión polipeptídico de ensayo puede mostrar características deseables adicionales, por ejemplo, el agente de unión polipeptídico de ensayo no disminuye de manera significativa la eliminación de dicho primer componente, o dicho segundo componente, o dicho complejo de señalización que comprende dichos componentes primero y segundo.

En un aspecto relacionado, la divulgación proporciona métodos para identificar moduladores del complejo de señalización insulina/receptor de insulina y un anticuerpo u otro modulador identificado por cualquiera de los métodos descritos anteriormente o en otras partes de la presente solicitud.

Tipos y fuentes de anticuerpos

La presente divulgación abarca anticuerpos específicos de diana que se unen a insulina, a receptor de insulina o al complejo de insulina/receptor de insulina. En realizaciones ejemplares, un anticuerpo específico de diana puede comprender una cadena ligera humana kappa (κ) o humana lambda (λ) o una secuencia de aminoácidos procedente de las mismas, o una cadena pesada humana o una secuencia derivada de la misma, o cadenas tanto ligeras como pesadas juntas en una sola cadena, o en forma dimérica, tetramérica u otras. En algunas realizaciones, una cadena pesada y una cadena ligera de una inmunoglobulina específica de diana son moléculas de aminoácidos diferentes. En otras realizaciones, la misma molécula de aminoácidos contiene una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera de un anticuerpo específico de diana.

El término "anticuerpo" se usa en el sentido más amplio e incluye anticuerpos completamente ensamblados, anticuerpos tetraméricos, anticuerpos monoclonales, anticuerpos policlonales, anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, anticuerpos biespecíficos), anticuerpos humanos y humanizados, fragmentos de anticuerpo que pueden unirse a un antígeno (por ejemplo, Fab', F(ab')₂, Fv, anticuerpos monocatenarios, diacuerpos), y péptidos recombinantes que comprenden a los anteriores siempre que muestren la actividad biológica deseada. Una "inmunoglobulina" o "anticuerpo tetramérico" es una glucoproteína tetramérica que consiste en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, cada una comprendiendo una región variable y una región constante. Pueden producirse porciones de unión a antígeno mediante técnicas de ADN recombinante o mediante escisión enzimática o química de anticuerpos intactos. Los fragmentos de anticuerpo o las porciones de unión a antígeno incluyen, entre otras cosas, fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, Fv, anticuerpos de dominio (dAb), fragmentos de región determinante de la complementariedad (CDR), anticuerpos monocatenarios (scFv), fragmentos de anticuerpo monocatenarios, anticuerpos quiméricos, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, minicuerpos, anticuerpos lineales; anticuerpos recombinantes quelantes, un tricuerpo o un bicuerpo, un intracuerpo, un nanocuerpo, un agente inmunofarmacéutico modular pequeño (SMIP), una proteína de fusión de dominio de unión a antígeno de inmunoglobulina, un anticuerpo camelizado, un anticuerpo que contiene VHH, o una variante o un derivado de los mismos, y polipéptidos que contienen al menos una porción de una inmunoglobulina que es suficiente para conferir unión a antígeno específica al polipéptido, siempre que el anticuerpo retenga la actividad biológica deseada.

En una inmunoglobulina de origen natural, cada tetrámero está compuesto de dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, cada una teniendo cada una cadena "ligera" (de aproximadamente 25 kDa) y una "pesada" (de aproximadamente 50-70 kDa). La porción amino-terminal de cada cadena incluye una región variable de

aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos responsables principalmente del reconocimiento del antígeno. La porción carboxilo-terminal de cada cadena define una región constante responsable principalmente de la función efectora. Las cadenas ligeras humanas se clasifican como cadenas ligeras kappa (κ) y lambda (λ). Las cadenas pesadas se clasifican como mu (μ), delta (Δ), gamma (γ), alfa (α), y épsilon (ϵ), y definen el isotipo del anticuerpo como IgM, IgD, IgG, IgA, e IgE, respectivamente. Entre las cadenas ligeras y pesadas, las regiones variables y constantes se unen mediante una región "J" de aproximadamente 12 o más aminoácidos, incluyendo la cadena pesada una región "D" de aproximadamente 10 aminoácidos más. Véanse de manera general, Fundamental Immunology, cap. 7 (Paul, W., ed., 2ª ed. Raven Press, N.Y. (1989)) (incorporado por referencia en su totalidad para todos los fines). Las regiones variables de cada par de cadena ligera/pesada forman el sitio de unión del anticuerpo de tal forma que una inmunoglobulina intacta tiene dos sitios de unión.

Cada cadena pesada tiene en un extremo un dominio variable (V_h) seguido de un número de dominios constantes. Cada cadena ligera tiene un dominio variable (V_l) en un extremo y un dominio constante en el otro extremo; el dominio constante de la cadena ligera se alinea con el primer dominio constante de la cadena pesada, y el dominio variable de la cadena ligera se alinea con el dominio variable de la cadena pesada. Se cree que restos concretos de aminoácidos forman una interfaz entre los dominios variables de la cadena ligera y pesada (Chothia et al., J. Mol. Biol. 196:901-917, 1987).

Los dominios variables de inmunoglobulina muestran la misma estructura general de regiones marco conservadas (FR) relativamente conservadas unidas por tres regiones hipervariables o CDR. De extremo N-terminal a extremo C-terminal, las cadenas tanto ligeras como pesadas comprenden los dominios FR1, CDR1, FR2, CDR2, FR3, CDR3 y FR4. La asignación de aminoácidos a cada dominio es de acuerdo con las definiciones de Kabat, Sequences of Proteins of Immunological Interest (National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1987 y 1991)), o Chothia y Lesk, (J. Mol. Biol. 196:901-917, 1987); Chothia et al., (Nature 342:878-883, 1989).

La región hipervariable de un anticuerpo se refiere a los restos de aminoácidos de las CDR de un anticuerpo que son responsables de la unión al antígeno. La región hipervariable comprende restos de aminoácidos de una CDR [es decir, los restos 24-34 (L1), 50-56 (L2) y 89-97 (L3) en el dominio variable de cadena ligera y 31-35 (H1), 50-65 (H2) y 95-102 (H3) en el dominio variable de cadena pesada tal como se describe por Kabat et al., Sequences of Proteins of Immunological Interest, 5ª ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md. (1991)] y/o aquellos restos de un bucle hipervariable (es decir, los restos 26-32 (L1), 50-52 (L2) y 91-96 (L3) en el dominio variable de cadena ligera y 26-32 (H1), 53-55 (H2) y 96-101 (H3) en el dominio variable de cadena pesada tal como se describe por [Chothia et al., J. Mol. Biol. 196: 901-917 (1987)]. Sin embargo, un experto en la materia entiende que la ubicación real de los restos de CDR puede variar respecto de los restos proyectados descritos anteriormente cuando se identifica la secuencia del anticuerpo particular.

Los restos marco conservados o de FR son aquellos restos de dominio variable distintos de los restos de la región hipervariable.

Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, las inmunoglobulinas pueden asignarse a diferentes clases, IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, que pueden dividirse adicionalmente en subclases o isotipos, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 y IgA2. Se conocen bien las estructuras de las subunidades y configuraciones tridimensionales de diferentes clases de inmunoglobulinas. Diferentes isotipos tienen diferentes funciones efectoras; por ejemplo, los isotipos IgG1 e IgG3 tienen actividad de ADCC. Un anticuerpo de la invención, si comprende un dominio constante, puede ser de cualquiera de estas subclases o isotipos.

En realizaciones ejemplares, un anticuerpo divulgado en el presente documento puede comprender una cadena ligera humana kappa (κ) o humana lambda (λ) o una secuencia de aminoácidos procedente de las mismas, o una cadena pesada humana o una secuencia derivada de la misma, o cadenas tanto ligeras como pesadas juntas en una sola cadena, o en forma dimérica, tetramérica u otras.

Un anticuerpo monoclonal se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea. Los anticuerpos monoclonales son generalmente elevadamente específicos, y pueden dirigirse contra un solo sitio antigénico, a diferencia de las preparaciones convencionales de anticuerpos (policlonales) que incluyen normalmente diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítomos). Además de su especificidad, los anticuerpos monoclonales son ventajosos en tanto que se sintetizan por un cultivo homogéneo, no contaminado por otras inmunoglobulinas con diferentes especificidades y características.

Los anticuerpos monoclonales para su uso de acuerdo con la presente invención pueden prepararse mediante el método de hibridoma descrito por primera vez por Kohler et al., (Nature, 256:495-7, 1975), o pueden prepararse mediante métodos de ADN recombinante (véase, por ejemplo, la patente de Estados Unidos Nº 4.816.567). Los anticuerpos monoclonales también se pueden aislar de bibliotecas de anticuerpos de fagos utilizando las técnicas descritas en, por ejemplo, Clackson et al., (Nature 352:624-628, 1991) y Marks et al., (J. Mol. Biol. 222:581-597, 1991).

En el método de hibridoma, un ratón u otro animal hospedador adecuado, tal como un hámster o un macaco, se

inmuniza para provocar linfocitos que producen o son capaces de producir anticuerpos que se unirán específicamente a la proteína usada para la inmunización (Harlow y Lane; *Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, Nueva York (1988).

5 *Producción recombinante de anticuerpos*

La presente divulgación también abarca moléculas de ácido nucleico que codifican anticuerpos de la invención. En algunas realizaciones, diferentes moléculas de ácido nucleico codifican una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera de un anticuerpo específico de antígeno. En otras realizaciones, la misma molécula de ácido nucleico codifica regiones variables de una cadena pesada y de una cadena ligera de un anticuerpo específico de antígeno.

El ADN que codifica un anticuerpo monoclonal de la divulgación puede aislarse y secuenciarse a partir de una célula de hibridoma que secreta el anticuerpo usando procedimientos convencionales (por ejemplo, mediante el uso de sondas de oligonucleótido que pueden unirse específicamente a genes que codifican las cadenas ligera y pesada de los anticuerpos monoclonales). La determinación de secuencia generalmente requerirá del aislamiento de la menos una porción del gen o del ADNc de interés. Normalmente esto requiere de la clonación del ADN o, preferentemente, ARNm (es decir, ADNc) que codifica los anticuerpos monoclonales. La clonación se lleva a cabo usando técnicas convencionales (véase, por ejemplo, Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Guide*, Volúmenes 1-3, Cold Spring Harbor Press, que se ha incorporado por referencia al presente documento). Por ejemplo, puede construirse una biblioteca de ADNc mediante transcripción inversa de poliA+ARNm, preferentemente ARNm asociado a membrana, y explorarse la biblioteca usando sondas específicas para secuencias génicas de polipéptido de inmunoglobulina humana. Las reacciones de sondas de nucleótidos y otras reacciones de hibridación de nucleótidos se llevan a cabo en condiciones que permiten la identificación de polinucleótidos que hibridan entre sí en condiciones específicas. Las condiciones de hibridación pueden calcularse tal como se describe en Sambrook, et al., (Eds.), *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press: Cold Spring Harbor, Nueva York (1989), págs. 9.47 a 9.51.

En una realización preferida, se usa la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para amplificar ADNc (o porciones de ADNc de longitud completa) que codifican un segmento génico de inmunoglobulina de interés (por ejemplo, un segmento variable de cadena ligera). Las secuencias amplificadas pueden clonarse fácilmente en un vector adecuado, por ejemplo, vectores de expresión, vectores de minigen, o vectores de presentación en fago. Se apreciará que el método particular de clonación empleado no es crítico, en tanto que sea posible determinar la secuencia de alguna porción del polipéptido de inmunoglobulina de interés. Tal como se usa en el presente documento, una molécula de ácido nucleico "aislada" o una secuencia de ácido nucleico "aislada" es una molécula de ácido nucleico que bien (1) se identifica y separa de al menos una molécula de ácido nucleico contaminante con la que normalmente se asocia en la fuente natural del ácido nucleico o (2) se clona, amplifica, marca, o de otro modo distingue de los ácidos nucleicos de fondo, de tal forma que puede determinarse la secuencia del ácido nucleico de interés, se considera aislada. Una molécula de ácido nucleico aislada está en otra forma o configuración distinta a la que se encuentra en la naturaleza. Las moléculas de ácido nucleico aisladas, por lo tanto, se distinguen de la molécula de ácido nucleico tal como existe en las células naturales. Sin embargo, una molécula de ácido nucleico aislada incluye una molécula de ácido nucleico contenida en células que normalmente expresan el anticuerpo donde, por ejemplo, la molécula de ácido nucleico está en una localización cromosómica distinta de la de las células naturales.

Una fuente de ARN usada para la clonación y secuenciación es un hibridoma producido obteniendo una célula B del ratón transgénico y fusionando la célula B a una célula inmortal. Como alternativa, el ARN puede aislarse a partir de células B (o bazo completo) del animal inmunizado. Cuando se usan fuentes distintas de hibridomas, puede ser deseable explorar respecto de secuencias que codifican inmunoglobulinas o polipéptidos de inmunoglobulina con características de unión específicas. Un método para dicha exploración es el uso de la tecnología de presentación en fagos. La presentación en fagos se describe además en el presente documento y se conoce bien en la técnica. Véase, por ejemplo, Dower et al., documento WO 91/17271, McCafferty et al., documento WO 92/01047, y Caton y Koprowski, (Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 87:6450-54 (1990)), cada uno de los cuales se incorpora en este documento por referencia en su totalidad. En una realización, se aísla ADNc de un ratón transgénico inmunizado (por ejemplo, ADNc total del bazo), se usa la reacción en cadena de la polimerasa para amplificar secuencias de ADNc que codifican una porción de un polipéptido de inmunoglobulina, por ejemplo, regiones CDR, y se insertan las secuencias amplificadas en un vector de fago. Los ADNc que codifican péptidos de interés, por ejemplo, péptidos de región variable con características de unión deseadas, se identifican mediante técnicas de presentación en fagos convencionales, tales como paneo.

Entonces se determina la secuencia del ácido nucleico amplificado o clonado. Típicamente, se determina la secuencia que codifica una región variable completa del polipéptido de inmunoglobulina, sin embargo, en ocasiones será adecuado secuenciar únicamente una porción de una región variable, por ejemplo, la porción codificante de la CDR. Típicamente, la porción secuenciada tendrá al menos 30 bases de longitud, con mayor frecuencia se secuenciará la codificación de bases para al menos aproximadamente una tercera parte o al menos la mitad de la longitud de la región variable.

La secuenciación puede llevarse a cabo en clones aislados a partir de una biblioteca de ADNc, o cuando se usa PCR, después de subclonar la secuencia amplificada o mediante secuenciación PCR directa del segmento amplificado. La secuenciación se lleva a cabo usando técnicas convencionales (véase, por ejemplo, Sambrook et al. (1989) *Molecular Cloning: A Laboratory Guide*, Volúmenes 1-3, Cold Spring Harbor Press, y Sanger, F. et al. (1977) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 74: 5463-5467, que se ha incorporado por referencia al presente documento). Al comparar la secuencia del ácido nucleico clonado con secuencias publicadas de genes y ADNc de inmunoglobulina humanos, un experto en la materia será fácilmente capaz de determinar, dependiendo de la región secuenciada, (i) el uso del segmento de línea germinal del polipéptido de inmunoglobulina de hibridoma (incluyendo el isotipo de la cadena pesada) y (ii) la secuencia de las regiones variables de cadena pesada y ligera, incluyendo secuencias resultantes de la adición de región N y el proceso de mutación somática. Una fuente de información de secuencia de genes de inmunoglobulina es el National Center for Biotechnology Information, National Library of Medicine, National Institutes of Health, Bethesda, Md.

Una vez aislado, el ADN puede introducirse en vectores de expresión, que después se transfecta en células hospedadoras, tales como células de *E. coli*, células COS de simio, células de riñón embrionario humano 293 (por ejemplo, células 293E), células de ovario de hámster chino (CHO), o células de mieloma que de otro modo no producen proteína de inmunoglobulina, para obtener la síntesis de los anticuerpos monoclonales en las células hospedadoras recombinantes. La producción recombinante de anticuerpos se conoce bien en la técnica.

Las secuencias de control de la expresión se refiere a secuencias de ADN necesarias para la expresión de una secuencia codificante unida operativamente en un organismo hospedador particular. Las secuencias de control que son adecuadas para procariotas, por ejemplo, incluyen un promotor, opcionalmente una secuencia operadora, y un sitio de unión a ribosomas. Se sabe que las células eucariotas utilizan promotores, señales de poliadenilación, y potenciadores.

En una realización alternativa, puede determinarse la secuencia de aminoácidos de una inmunoglobulina de interés mediante secuenciación directa de proteínas. Las secuencias de nucleótidos codificantes adecuadas pueden diseñarse de acuerdo con una tabla de codones universal.

Pueden prepararse variantes de secuencias de aminoácidos del anticuerpo deseado introduciendo cambios de nucleótidos adecuados en el ADN codificante, o mediante síntesis peptídica. Dichas variantes incluyen, por ejemplo, eliminaciones de, y/o inserciones en y/o sustituciones de, restos dentro de las secuencias de los anticuerpos. Cualquier combinación de eliminación, inserción, y sustitución se efectúa para llegar a la construcción final, siempre que la construcción final posea las características deseadas. Los cambios de aminoácidos también pueden alterar el procesamiento postraducciona del anticuerpo, tal como cambiando el número o posición de los sitios de glucosilación.

Las moléculas de ácido nucleico que codifican variantes de secuencia de aminoácidos del anticuerpo se preparan mediante una diversidad de métodos conocidos en la materia. Estos métodos incluyen, pero sin limitación, aislamiento de una fuente natural (en el caso de variantes de secuencia de aminoácidos de origen natural) o preparación por mutagénesis mediada por oligonucleótidos (o dirigida a sitios), mutagénesis por PCR, y mutagénesis de casete de una variante preparada anteriormente o una versión no variante del anticuerpo.

También se divulgan ácidos nucleicos aislados que codifican anticuerpos de la invención, opcionalmente unido operativamente a secuencias de control reconocidas por una célula hospedadora, vectores y células hospedadoras que comprenden los ácidos nucleicos, y técnicas recombinantes para la producción de los anticuerpos, que pueden comprender cultivar la célula hospedadora de tal forma que se expresa el ácido nucleico y, opcionalmente, recuperar el anticuerpo del cultivo de célula hospedadora o del medio de cultivo. Varios sistemas y métodos para la producción de anticuerpos se revisan por Birch y Racher (*Adv. Drug Deliv. Rev.* 671-685 (2006)).

Para la producción recombinante del anticuerpo, el ácido nucleico que lo codifica se aísla e inserta en un vector replicable para clonación posterior (amplificación del ADN) o para expresión. El ADN que codifica al anticuerpo monoclonal se aísla fácilmente y se secuencia usando procedimientos convencionales (por ejemplo, mediante el uso de sondas de oligonucleótido que pueden unirse específicamente a genes que codifican las cadenas ligera y pesada del anticuerpo). Están disponibles muchos vectores. Los componentes del vector incluyen generalmente, pero sin limitación, uno o más de los siguientes: una secuencia de señal, un origen de replicación, uno o más genes de marcador de selección, un elemento potenciador, un promotor, y una secuencia de terminación de la transcripción.

Las células hospedadoras adecuadas para clonar o expresar el ADN en los vectores del presente documento son células procariotas, levaduras, o eucariotas superiores. Los procariotas adecuados para este propósito incluyen eubacterias, tales como organismos Gram-negativos y Gram-positivos, por ejemplo, *Enterobacteriaceae*, tales como *Escherichia*, por ejemplo, *E. coli*, *Enterobacter*, *Erwinia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella*, por ejemplo, *Salmonella typhimurium*, *Serratia*, por ejemplo, *Serratia marcescans*, y *Shigella*, así como *Bacilli* tales como *B. subtilis* y *B. licheniformis* (por ejemplo, *B. licheniformis* 41P divulgado en el documento DD 266.710 publicado el 12 de abril de 1989), *Pseudomonas* tales como *P. aeruginosa*, y *Streptomyces*. Un hospedador de clonación preferido de *E. coli* es *E. coli* 294 (ATCC 31.446), aunque son adecuadas otras cepas, tales como *E. coli* B, *E. coli* X1776 (ATCC 31.537), y

E. coli W3110 (ATCC 27.325). Estos ejemplos son ilustrativos más que limitantes.

Además de procariotas, los microbios eucariotas, tales como hongos filamentosos o levaduras son hospedadores adecuados para clonación o expresión para vectores que codifican anticuerpos. *La Saccharomyces cerevisiae*, o levadura común de panadero, es la más usada entre los microorganismos hospedadores de eucariotas inferiores. Sin embargo, un número de otros géneros, especies y cepas están disponibles de manera común y son útiles en el presente documento, tales como *Schizosaccharomyces pombe*; hospedadores de *Kluyveromyces*, tales como, por ejemplo, *K. lactis*, *K. fragilis* (ATCC 12.424), *K. bulgaricus* (ATCC 16.045), *K. wickerhamii* (ATCC 24.178), *K. waltii* (ATCC 56.500), *K. drosophilae* (ATCC 36.906), *K. thermotolerans*, y *K. marxianus*; *Yarrowia* (documento EP 402.226); *Pichia pastoris* (documento EP 183.070); *Candida*; *Trichoderma reesei* (documento EP 244.234); *Neurospora crassa*; *Schwanniomyces* tales como *Schwanniomyces occidentalis*; y hongos filamentosos, tales como, por ejemplo, *Neurospora*, *Penicillium*, *Tolypocladium*, y *Aspergillus*, tales como *A. nidulans* y *A. niger*.

Las células hospedadores adecuadas para la expresión de anticuerpo glucosilado proceden de organismos multicelulares. Los ejemplos de células de invertebrados incluyen células vegetales y de insecto. Se han identificado numerosas cepas y variantes baculovirales y correspondientes células hospedadoras de insecto permisivas a partir de hospedadores tales como *Spodoptera frugiperda* (oruga), *Aedes aegypti* (mosquito), *Aedes albopictus* (mosquito), *Drosophila melanogaster* (mosca de la fruta), y *Bombyx mori*. Están disponibles varias cepas virales para transfección, por ejemplo, la variante L-1 de *Autographa californica* NPV y la cepa Bm-5 de *Bombyx mori* NPV, y dichos virus pueden usarse como los virus del presente documento de acuerdo con la presente invención particularmente para la transfección de células de *Spodoptera frugiperda*.

Los cultivos de células vegetales de algodón, maíz, patata, soja, petunia, tomate tabaco, lechuga, y otras células vegetales también pueden usarse como hospedadores.

Los ejemplos de líneas celulares hospedadoras de mamífero útiles son células de ovario de hámster chino, incluyendo células CHOK1 (ATCC CCL61), DXB-11, DG-44, y células de ovario de hámster chino/DHFR (CHO, Urlaub et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77: 4216 (1980)); línea de riñón de mono CV1 transformadas por SV40 (COS-7, ATCC CRL 1651); línea celular de riñón embrionario humano (células 293 o 293 subclonadas para crecimiento en cultivo en suspensión, (Graham et al., J. Gen Virol. 36: 59, 1977); células de riñón de cría de hámster (BHK, ATCC CCL 10); células de sertoli de ratón (TM4, Mather, (Biol. Reprod. 23: 243-251, 1980); células de riñón de mono (CV1 ATCC CCL 70); células de riñón de mono verde africano (VERO-76, ATCC CRL-1587); células de carcinoma de cuello de útero humano (HELA, ATCC CCL 2); células de riñón canino (MDCK, ATCC CCL 34); células de hígado de rata búfalo (BRL 3A, ATCC CRL 1442); células de pulmón humano (W138, ATCC CCL 75); células de hígado humano (Hep G2, HB 8065); de tumor mamario de ratón (MMT 060562, ATCC CCL51); células TRI (Mather et al., Annals N.Y Acad. Sci. 383: 44-68 (1982)); células MRC 5; células FS4; y una línea celular de hepatoma humano (Hep G2).

Las células hospedadoras se transforman o transfectan con los vectores de expresión o clonación anteriormente descritos para la producción de anticuerpos y se cultivan en medio nutriente convencional modificado según sea necesario para inducir promotores, seleccionar transformantes, o amplificar los genes que codifican las secuencias deseadas. Además, son particularmente útiles y se prefieren nuevos vectores y líneas celulares transformadas con múltiples copias de unidades de transcripción separadas por un marcador de selección para la expresión de anticuerpos que se unen al antígeno deseado.

Las células hospedadoras que contienen secuencias de ácido nucleico deseadas pueden cultivarse en una diversidad de medios. Los medios comercialmente disponibles, tales como F10 de Ham (Sigma), Medio Esencial Mínimo ((MEM), Sigma), RPMI-1640 (Sigma), y medio Eagle modificado de Dulbecco ((DMEM), Sigma) son adecuados para cultivar las células hospedadoras. Además, cualquiera de los medios descritos en Ham et al., (Meth. Enz. 58: 44, 1979), Barnes et al., Anal. Biochem. 102: 255 (1980), Patentes de Estados Unidos n.º 4.767.704; 4.657.866; 4.927.762; 4.560.655; o 5.122.469; documento WO 90/103430; documento WO 87/00195; o Solicitud de Patente de los Estados Unidos n.º 30.985 pueden usarse como medio de cultivo para las células hospedadoras. Cualquiera de estos medios puede suplementarse según sea necesario con hormonas y/u otros factores de crecimiento (tales como insulina, transferrina, o factor de crecimiento epidérmico), sales (tales como cloruro de sodio, calcio, magnesio, y fosfato), tampones (tales como HEPES), nucleótidos (tales como adenosina y timidina), antibióticos (tales como fármaco de GENTAMICINA™), oligoelementos (definidos como compuestos inorgánicos normalmente presentes en concentraciones finales en el intervalo micromolar), y glucosa o una fuente de energía equivalente. Cualquier otro suplemento necesario puede también introducirse en concentraciones adecuadas que serán conocidas para los expertos en la materia. Las condiciones de cultivo, tales como temperatura, el pH, y similares, son aquellas usadas previamente con la célula hospedadora seleccionada para expresión, y serán evidentes para los expertos en la materia.

Cuando se usan técnicas recombinantes, el anticuerpo puede producirse intracelularmente, y en el espacio periplásmico, o secretarse directamente al medio, incluyendo de cultivos microbianos. Si el anticuerpo se produce intracelularmente, como primera etapa, los residuos en partículas, ya sean células hospedadoras o fragmentos lisados, se eliminan, por ejemplo, mediante centrifugación o ultrafiltración. Better et al. (Science 240:1041-43, 1988;

ICSU Short Reports 10:105 (1990); y Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:457-461 (1993) describen un procedimiento para aislar anticuerpos que se secretan al espacio periplásmico de *E. coli*. [Véanse también (Carter et al., Biotechnology 10:163-167 (1992)).

- 5 La composición de anticuerpo preparada a partir de células microbianas o de mamífero puede purificarse usando, por ejemplo, cromatografía de hidroxilapatita catiónica o cromatografía de intercambio aviar, y cromatografía de afinidad, siendo la cromatografía de afinidad la técnica de purificación preferida. La adecuación de la proteína A como ligando de afinidad depende de la especie e isotipo de cualquier dominio Fc de inmunoglobulina que esté presente en el anticuerpo. La proteína A puede usarse para purificar anticuerpos que están basados en las cadenas pesadas $\gamma 1$, $\gamma 2$, o $\gamma 4$ (Lindmark et al., J. Immunol. Meth. 62: 1-13, 1983). La proteína G se recomienda para todos los isotipos de ratón y para $\gamma 3$ humana (Guss et al., EMBO J. 5:1567-1575 (1986)). La matriz a la que se une el ligando de afinidad es con frecuencia agarosa, pero hay disponibles otras matrices. Las matrices mecánicamente estables, tales como vidrio de poro controlado o poli(estireno-divinil)benceno permite caudales más rápidos y tiempos de procesado más cortos de los que pueden lograrse con agarosa. Cuando el anticuerpo comprende un dominio C_{H3} , la resina Bakerbond ABX™ (J. T. Baker, Phillipsburg, NJ) es útil para la purificación. Otras técnicas para la purificación de proteínas, tales como el fraccionamiento en una columna de intercambio iónico, precipitación por etanol, HPLC en fase reversa, cromatografía sobre sílice, cromatografía en heparina, cromatografía de SEPHAROSE™ en una resina de intercambio aniónico o catiónico (tal como una columna de ácido poliaspártico), cromatografía de SDS-PAGE, y precipitación de sulfato de amonio también están disponibles dependiendo del anticuerpo que se va a recuperar.

Anticuerpos de la divulgación

- La presente divulgación abarca anticuerpos específicos de diana que se unen a insulina, a receptor de insulina y/o al complejo de insulina/receptor de insulina, y preferentemente alteran (por ejemplo, aumentan o disminuyen) la señalización del receptor de insulina y/o su efecto en los niveles de glucosa y la captación de glucosa. En realizaciones ejemplares, un anticuerpo específico de diana divulgado en el presente documento puede comprender una cadena ligera humana kappa (κ) o humana lambda (λ) o una secuencia de aminoácidos procedente de las mismas, o una cadena pesada humana o una secuencia derivada de la misma, o cadenas tanto ligeras como pesadas juntas en una sola cadena, o en forma dimérica, tetramérica u otras. En algunas realizaciones, una cadena pesada y una cadena ligera de una inmunoglobulina específica de diana son moléculas de aminoácidos diferentes. En otras realizaciones, la misma molécula de aminoácidos contiene una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera de un anticuerpo específico de diana.
- En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos del anticuerpo anti-diana comprende una o más CDR de la secuencia de aminoácidos de región variable de cadena ligera (V_L) madura (es decir, con la secuencia de señal ausente) de los anticuerpos en las SEC ID N°: 1-150 o variantes de los mismos. En algunas realizaciones, la V_L comprende la secuencia de aminoácidos desde el comienzo de la CDR1 hasta el fin de la CDR3 de la cadena ligera de uno cualquiera de los anticuerpos anteriores.
- En una realización, el anticuerpo específico de diana comprende una CDR1, CDR2 o CDR3 de cadena ligera (LCDR1, LCDR2, LCDR3), cada una de las cuales se seleccionan independientemente entre las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo que tiene una región variable de cadena ligera que comprende la secuencia de aminoácidos de la región V_L expuesta en las SEC ID N°: 1 - 150. En un aspecto, la CDR1 de cadena ligera se encuentra entre los restos 24-36, la CDR2 se encuentra entre los restos 50-56 y la CDR3 se encuentra entre los restos 89-101, de acuerdo con la numeración de Chothia. Un polipéptido del anticuerpo específico de diana puede comprender las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de la región V_L seleccionadas entre el grupo que consiste en las SEC ID N°: 1 - 150.
- En algunas realizaciones, el anticuerpo específico de diana comprende una o más CDR de la secuencia de aminoácidos de la región variable de cadena pesada (V_H) madura (es decir, con la secuencia de señal ausente) de los anticuerpos expuestos en las SEC ID N°: 151-303 o variantes de los mismos. En algunas realizaciones, la V_H comprende la secuencia de aminoácidos desde el comienzo de la CDR1 hasta el fin de la CDR3 de una cualquiera de las cadenas pesadas de los anticuerpos anteriores.
- En una realización, el anticuerpo específico de diana comprende una CDR1, CDR2 o CDR3 de cadena pesada (HCDR1, HCDR2, HCDR3), cada una de las cuales se seleccionan independientemente entre las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de la región V_H expuesta en las SEC ID N°: 151-303. Además se contempla que un anticuerpo específico de diana comprenda una CDR1, CDR2 o CDR3 de cadena pesada, cada una de las cuales se seleccionan independientemente entre las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo que tiene una región variable de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de la región V_H expuesta en las SEC ID N°: 151-303. En un aspecto, las CDR de cadena pesada se localizan de acuerdo con la numeración de Chothia: la CDR1 se localiza entre los restos 26-35, la CDR2 se encuentra entre los restos 50-58 y la CDR3 se encuentra entre los restos 95-111 o 97-118. Un polipéptido del anticuerpo específico de diana puede comprender las regiones CDR1, CDR2 y CDR3 de un anticuerpo que tiene la secuencia de aminoácidos de la región V_H seleccionadas entre el grupo que

consiste en las SEC ID N°: 151-303.

Las CDR en las tablas 1 y 2 y en las SEC ID N°: 1-303 se determinaron de acuerdo con el sistema IMGT, LeFranc et al IMGT, the INTERNATIONAL IMMUNOGENETICS INFORMATION SYSTEM®, Nucl. Ac. Res. 33 D593-597 (2005).

En otra realización, el anticuerpo comprende una región variable de cadena ligera madura tal como se ha divulgado anteriormente y una región variable de cadena pesada madura tal como se ha divulgado anteriormente, emparejadas tal como se expone en la tabla 3. En otra realización, se divulga en el presente documento una preparación purificada de un anticuerpo monoclonal, que comprende la región variable de cadena ligera y las regiones variables de cadena pesada de cualquiera de los anticuerpos expuestos en las SEC ID N°: 1-303 y emparejadas tal como se expone en la tabla 3.

En realizaciones ejemplares, la invención contempla:

un anticuerpo monoclonal que es un antagonista alostérico del receptor de insulina que retiene cualquiera de una, dos, tres, cuatro, cinco, o seis de HCDR1, HCDR2, HCDR3, LCDR1, LCDR2, o LCDR3 de una cualquiera de las SEC ID N°: 151 - 303 y las SEC ID N°: 1-150, respectivamente, incluyendo opcionalmente una o dos mutaciones en cualquiera de dichas CDR, por ejemplo, una sustitución conservativa o no conservativa, y opcionalmente emparejadas tal como se expone en la tabla 3;

un anticuerpo monoclonal que es un antagonista alostérico del receptor de insulina que retiene todas de HCDR11, HCDR2, HCDR3, o la región variable de cadena pesada de una cualquiera de las SEC ID N°: 151-303, incluyendo opcionalmente una o dos mutaciones en cualquiera de dichas CDR, que comprenden además opcionalmente cualquier región constante de cadena pesada, por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgM, IgA1, IgA2, o IgE, una secuencia humana de los mismos, o un híbrido de los mismos o un consenso humano de los mismos;

un anticuerpo monoclonal que es un antagonista alostérico del receptor de insulina que retiene todas de LCDR1, LCDR2, LCDR3, o la región variable de cadena ligera de una cualquiera de las SEC ID N°: 1-150, incluyendo opcionalmente una o dos mutaciones en cualquiera de dichas CDR, que comprenden además opcionalmente cualquier región constante de cadena ligera, por ejemplo, una región constante de cadena ligera kappa o lambda, una secuencia humana de los mismos, o un híbrido de los mismos o un consenso humano de los mismos.

También se proporciona en el presente documento un anticuerpo monoclonal que se une al mismo epítipo lineal o tridimensional de INSR que un anticuerpo que comprende regiones variables expuestas en las SEC ID N°: 1-303, por ejemplo, tal como se determina mediante cristalografía de rayos X u otras técnicas biofísicas o bioquímicas, tales como espectrometría de masas de intercambio de deuterio, barrido de alanina y ELISA de fragmentos peptídicos.

También se proporciona en el presente documento un anticuerpo monoclonal que compite con un anticuerpo que comprende regiones variables expuestas en las SEC ID N°: 1-303 para su unión a INSR humano en más de aproximadamente un 75 %, más de aproximadamente un 80 %, o más de aproximadamente un 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 % o 95 %.

En algunas realizaciones, el anticuerpo comprende todas las tres CDR de cadena ligera, todas las tres CDR de cadena pesada, o todas las seis CDR de la cadena ligera y pesada, emparejadas tal como se expone en la tabla 3. En algunas realizaciones ejemplares, pueden combinarse dos CDR de cadena ligera de un anticuerpo con una tercera CDR de cadena ligera de un anticuerpo diferente. Como alternativa, puede combinarse una LCDR1 de un anticuerpo con una LCDR2 de un anticuerpo diferente y una LCDR3 de otro anticuerpo más, en particular en los casos donde las CDR son altamente homólogas. De manera similar, pueden combinarse dos CDR de cadena pesada de un anticuerpo con una tercera CDR de cadena pesada de un anticuerpo diferente; o puede combinarse una HCDR1 de un anticuerpo con una HCDR2 de un anticuerpo diferente y una HCDR3 de otro anticuerpo más, en particular en los casos donde las CDR son altamente homólogas.

También pueden usarse CDR consenso. Puede combinarse cualquiera de las CDR consenso procedentes del presente documento con otras dos CDR de la misma cadena (por ejemplo, pesada o ligera) de cualquiera de los anticuerpos, por ejemplo, para formar una región variable de cadena pesada o ligera adecuada.

En algunas realizaciones, se proporciona un anticuerpo que comprende un polipéptido que tiene una secuencia de aminoácidos al menos un 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más idéntica a la región variable de cadena pesada expuesta en las SEC ID N°: 148-284 y/o una secuencia de aminoácidos al menos aproximadamente un 65 %, 70 %, 75 %, 80 %, 81 %, 82 %, 83 %, 84 %, 85 %, 86 %, 87 %, 88 %, 89 %, 90 %, 91 %, 92 %, 93 %, 94 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, 99 % o más idéntica a la región variable de cadena ligera expuesta en las SEC ID N°: 1-150, comprendiendo el anticuerpo además al menos una, dos, tres, cuatro, cinco o toras de CDR1, CDR2, CDRH3, CDRL1, CDRL2 o CDRL3. En algunas realizaciones, la secuencia de aminoácidos con porcentaje de identidad respecto de la región variable de cadena ligera puede comprender una, dos o tres de las CDR de cadena ligera. En

otras realizaciones, la secuencia de aminoácidos con porcentaje de identidad respecto de la región variable de cadena pesada puede comprender una, dos, o tres de las CDR de cadena pesada.

Se contempla que los anticuerpos de la divulgación pueden tener una, o dos o más sustituciones de aminoácidos en las regiones CDR del anticuerpo, por ejemplo, sustituciones no conservativas o conservativas.

En una realización relacionada, se alteran los restos del armazón. Las regiones marco conservadas de cadena pesada que pueden alterarse se encuentran dentro de las regiones denominadas H-FR1, H-FR2, H-FR3 y H-FR4, que rodean a los restos de CDR de cadena pesada, y los restos de las regiones marco conservadas de cadena ligera que pueden alterarse se encuentran dentro de las regiones denominadas L-FR1, L-FR2, L-FR3 y L-FR4, que rodean a los restos de CDR de cadena ligera. Puede reemplazarse un aminoácido dentro de la región marco conservada, por ejemplo, con cualquier aminoácido adecuado identificado en un armazón humano o en un armazón consenso humano.

También se divulga un polipéptido purificado que comprende una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de las SEC ID N°: 1-150 fusionadas a una cualquiera de las secuencias de aminoácidos de las SEC ID N°: 151-303, opcionalmente emparejadas como las regiones variables de cadena ligera/pesada expuestas en la tabla 3, o fragmentos de las mismas que incluyen al menos una porción de las SEC ID N°: 1-150 y las SEC ID N°: 151-303, opcionalmente emparejadas tal como se expone en la tabla 3, en el que el polipéptido se une al receptor de insulina, a insulina o al complejo de insulina/receptor de insulina.

También se divulga un polipéptido purificado que comprende al menos una CDR de una región variable de cadena ligera descrita en el presente documento, en el que la región variable de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 90 % idéntica a las secuencias de LCDR expuestas en las SEC ID N°: 1-150. En una realización, el polipéptido puede ser un 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % idéntico a una cualquiera de las LCDR expuestas en las SEC ID N°: 1-150. En un aspecto adicional, la divulgación proporciona un polipéptido purificado que comprende al menos una CDR de una región variable de cadena pesada descrita en el presente documento, en el que la región variable de cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos al menos un 90 % idéntica a las secuencias de HCDR expuestas en las SEC ID N°: 151-303. En una realización, el polipéptido puede ser un 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 %, o 99 % idéntico a una cualquiera de las HCDR expuestas en las SEC ID N°: 151-303.

Además se contempla que las CDR de las cadenas pesada y ligera de anticuerpo comprenden secuencias de aminoácidos variantes que pueden mejorar la afinidad de unión del anticuerpo y se derivan mediante, por ejemplo, maduración de afinidad. En un aspecto se contempla que un anticuerpo de la divulgación comprende una secuencia HCDR2 de cadena pesada que tiene aproximadamente un 35 % de identidad con una HCDR2 de una secuencia progenitora de anticuerpo expuesta en las SEC ID N°: 151-303. En un aspecto relacionado se contempla que un anticuerpo de la divulgación comprende una secuencia HCDR3 de cadena pesada que tiene aproximadamente un 50 % de identidad con una HCDR3 de una secuencia progenitora de anticuerpo expuesta en las SEC ID N°: 151-303.

También se divulgan compuestos de unión a antígeno, incluyendo fragmentos funcionales, que tienen una secuencia de aminoácidos de región variable expuesta en una cualquiera de las SEC ID N°: 1-150 y 151-303. En una realización relacionada, un compuesto de unión a antígeno anteriormente mencionado se selecciona entre el grupo que consiste en un anticuerpo tetramérico completamente ensamblado, un anticuerpo policlonal, un anticuerpo monoclonal incluyendo un anticuerpo HUMAN ENGINEERED™; un anticuerpo humanizado; un anticuerpo humano; un anticuerpo quimérico; un anticuerpo multiespecífico, un fragmento de anticuerpo, fragmentos Fab, F(ab')₂; Fv; scFv o un fragmento de anticuerpo monocatenario; un diacuerpo; triacuerpo, tetracuerpo, minicuerpos, anticuerpos lineales; anticuerpos recombinantes quelantes, un tricuerpo o un bicuerpo, un intracuerpo, un nanocuerpo, un agente inmunofarmacéutico modular pequeño (SMIP), una proteína de fusión de dominio de unión de inmunoglobulina, un anticuerpo camelizado, un anticuerpo que contiene V_{HH}, o una variante o derivado de uno cualquiera de estos anticuerpos, que comprende una o más secuencias de CDR divulgada en el presente documento y que muestra la actividad biológica deseada. Los compuestos de unión a antígeno retienen preferentemente una afinidad de unión de 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸, 10⁻⁹, 10⁻¹⁰, 10⁻¹¹ M o menor tal como se mide mediante resonancia de plasmón superficial.

En un aspecto, los anticuerpos divulgados en el presente documento comprenden una región variable de cadena pesada o región variable de cadena ligera tal como se expone en las secuencias de aminoácidos SEC ID N°: 151-303 y las SEC ID N°: 1-150, respectivamente, tal como se emparejan en la tabla 3. Se contempla además que los anticuerpos pueden comprender la totalidad o parte de los anticuerpos expuestos en las secuencias de aminoácidos anteriores. En una realización, los anticuerpos comprenden al menos una de CDR1, CDR2, o CDR3 de la cadena pesada de las SEC ID N°: 151-303, o al menos una CDR1, CDR2 o CDR3 de la cadena ligera de las SEC ID N°: 1-150, tal como se emparejan en la tabla 3.

En una realización, la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos identificada como secuencia de CDR3 de cadena pesada. Dicha "secuencia de CDR3 de cadena pesada" (HCDR3) incluye una secuencia de aminoácidos identificada como secuencia de CDR3 de cadena pesada expuesta en la tabla 2 y en las SEC ID N°:

151-303. Como alternativa, la secuencia de HCDR3 comprende una secuencia de aminoácidos que contiene uno o más cambios de aminoácidos en comparación con cualquier secuencia de aminoácidos de HCDR3 identificada en la tabla 2, es decir, una sustitución, inserción o eliminación. Las sustituciones preferentes incluyen una sustitución para un aminoácido en la posición correspondiente en otra HCDR3 de la tabla 2. Como alternativa, la secuencia de HCDR3 puede comprender una secuencia de aminoácidos consenso de la HCDR3 descrita en el presente documento.

Como alternativa, la cadena pesada que comprende una secuencia de HCDR3 descrita anteriormente puede comprender además una "secuencia de CDR2 de cadena pesada" (HCDR2), que incluye cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas como HCDR2 en las SEC ID N°: 151-303 y en la tabla 2, secuencias de aminoácidos que contienen uno o más cambios de aminoácidos en comparación con cualquier HCDR2 identificada en las SEC ID N°: 151-303 y en la tabla 2, preferentemente una sustitución para un aminoácido en la posición correspondiente en otra HCDR2 de la tabla 2, o una secuencia consenso de la HCDR2 descrita en el presente documento.

La cadena pesada que comprende una secuencia de CDR3 de cadena pesada descrita anteriormente también puede comprender tanto (a) una secuencia de CDR1 de cadena pesada descrita anteriormente como (b) una secuencia de CDR2 de cadena pesada descrita anteriormente.

También se divulga un anticuerpo que se une a antígeno diana que comprende una cadena pesada que comprende una cualquiera, dos, y/o tres de las secuencias de CDR de cadena pesada descritas más adelante.

Cualquiera de las secuencias de CDR de cadena pesada descritas anteriormente también puede incluir aminoácidos añadidos a cualquiera de los dos extremos de las CDR. La preparación de variantes y derivados de anticuerpos y compuestos de unión a antígeno divulgados en el presente documento, incluyendo la maduración por afinidad o la preparación de variantes o derivados que contienen análogos de aminoácidos, se describe en más detalle en el presente documento. Las variantes ejemplares incluyen aquellas que contienen una sustitución conservativa o no conservativa de un aminoácido correspondiente dentro de la secuencia de aminoácidos, o un reemplazo de un aminoácido con un aminoácido correspondiente de una secuencia de anticuerpo humano.

Los anticuerpos que comprenden una cualquiera de las cadenas pesadas descritas anteriormente pueden comprender además una cadena ligera, preferentemente una cadena ligera que se une a antígeno diana, y lo más preferentemente una cadena ligera que comprende secuencias de CDR de cadena ligera descritas anteriormente.

También se divulga un anticuerpo que se une a antígeno diana que comprende una cadena ligera que comprende una cualquiera, dos, y/o tres de las secuencias de CDR de cadena ligera descritas más adelante.

Preferentemente, la cadena pesada comprende una secuencia de aminoácidos identificada como secuencia de CDR3 de cadena ligera. Dicha "secuencia de CDR3 de cadena ligera" (LCDR3) incluye una secuencia de aminoácidos identificada como secuencia de CDR3 de cadena ligera en la tabla 1 y en las SEC ID N°: 1-150. Como alternativa, la secuencia de CDR3 de cadena ligera comprende una secuencia de aminoácidos que contiene uno o más cambios de aminoácidos en comparación con cualquier secuencia de aminoácidos de CDR3 de cadena ligera identificada en la tabla 1, es decir, una sustitución, inserción o eliminación. Las sustituciones preferentes incluyen una sustitución para un aminoácido en la posición correspondiente en otra CDR3 de cadena ligera de la tabla 1. Como alternativa, la secuencia de CDR3 de cadena ligera puede comprender una secuencia de aminoácidos consenso de CDR3 de cadena ligera mostrada en la tabla 1.

La cadena ligera que comprende una secuencia de CDR3 de cadena ligera descrita anteriormente puede comprender además una "secuencia de CDR1 de cadena ligera", que incluye cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas como una CDR1 de cadena ligera en las SEC ID N°: 1-150 o en la tabla 1, secuencias de aminoácidos que contienen uno o más cambios de aminoácidos en comparación con cualquier CDR1 de cadena ligera identificada en las SEC ID N°: 1-150 o en la tabla 1, preferentemente una sustitución para un aminoácido en la posición correspondiente en otra CDR1 de cadena ligera de la tabla 1, o una secuencia consenso de la CDR1 de cadena ligera descrita en el presente documento.

Como alternativa, la cadena ligera que comprende una secuencia de CDR3 de cadena ligera descrita anteriormente puede comprender además una "secuencia de CDR2 de cadena ligera", que incluye cualquiera de las secuencias de aminoácidos identificadas como una CDR2 de cadena ligera en las SEC ID N°: 1-150 o en la tabla 1, secuencias de aminoácidos que contienen uno o más cambios de aminoácidos en comparación con cualquier CDR2 de cadena ligera identificada en la tabla 1, preferentemente una sustitución para un aminoácido en la posición correspondiente en otra CDR2 de cadena ligera de las SEC ID N°: 1-150 o en la tabla 1, o una secuencia consenso de la CDR2 de cadena ligera mostrada en la tabla 1.

En un aspecto relacionado, la divulgación contempla un polipéptido purificado que comprende al menos una HCDR de las SEC ID N°: 151-303 o LCDR de las SEC ID N°: 1-150, en el que las regiones marco conservadas de la región variable de cadena pesada y las regiones marco conservadas de la región variable de cadena ligera comprenden

regiones marco conservadas de un anticuerpo humano. En otra realización, las regiones marco conservadas de la región variable de cadena pesada y las regiones marco conservadas de la región variable de cadena ligera se alteran químicamente mediante sustitución de aminoácidos para que sean más homólogas a la secuencia de un anticuerpo humano. Por ejemplo, dentro de cada región marco conservada de cadena pesada (H-FR1-4) se contempla que al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco, o al menos seis restos de región marco conservada nativos de la región variable de cadena pesada murina se hayan alterado mediante sustitución de aminoácidos, y en el que dentro de cada región marco conservada de cadena ligera (L-FR1-4), al menos uno, al menos dos, al menos tres, al menos cuatro, al menos cinco o al menos seis restos de región marco conservada nativos de la región variable de cadena ligera murina se hayan alterado mediante sustitución de aminoácidos.

La cadena ligera que comprende una secuencia de CDR3 de cadena ligera descrita anteriormente también puede comprender tanto (a) una CDR1 de cadena ligera descrita anteriormente como (b) una secuencia de CDR2 de cadena ligera descrita anteriormente.

Los anticuerpos que comprenden una cualquiera de las regiones variables de cadena ligera descritas anteriormente pueden comprender además una región variable de cadena pesada, opcionalmente emparejada como se describe en la tabla 3, preferentemente una región variable de cadena ligera que se une a antígeno diana, y lo más preferentemente una región variable de cadena pesada que comprende secuencias de CDR de cadena pesada descritas anteriormente.

En un aspecto, el anticuerpo se une al receptor de insulina o a un complejo que comprende insulina y receptor de insulina con una constante de equilibrio de disociación K_D de 10^{-5} M o menos que es capaz de fortalecer la afinidad de unión entre insulina y el receptor de insulina en aproximadamente 5 veces a 200 veces. En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo modulador positivo, por ejemplo, que fortalece la afinidad de unión entre la insulina y el receptor de insulina. En algunas realizaciones, el anticuerpo modulador positivo incluye, pero sin limitación, Ab006, Ab030, Ab004, Ab013, Ab009, Ab007, Ab011, Ab001, Ab012, Ab010, Ab003, Ab008, Ab002, Ab005, Ab076, Ab077, Ab079, Ab080, Ab083, Ab059, Ab078, Ab085 o cualquier polipéptido que comprende una o más de las CDR correspondientes a uno cualquiera de los anticuerpos anteriores tal como se exponen en las tablas 1 y 2, o en una región variable de anticuerpo expuesta en las SEC ID N°: 76, 80, 101, 128, 132 y las SEC ID N°: 291, 196, 239, 267, 271.

En realizaciones adicionales, el anticuerpo modulador positivo se une al receptor de insulina, al complejo insulina/receptor de insulina, o se une tanto al receptor de insulina como al complejo de insulina/receptor de insulina. En una realización relacionada, el anticuerpo modulador positivo que se une al receptor de insulina o al complejo de insulina/receptor de insulina, o ambos, incluye, pero sin limitación, Ab006, Ab030, Ab004, Ab013, Ab009, Ab007, Ab011, Ab001, Ab012, Ab010, Ab003, Ab008, Ab002, Ab005, Ab076, Ab077, Ab079, Ab080, Ab083 o cualquier polipéptido que comprende una o más de las CDR correspondientes a uno cualquiera de los anticuerpos anteriores tal como se exponen en las tablas 1 y 2, o en una región variable de anticuerpo expuesta en las SEC ID N°: 76, 80, 101 y las SEC ID N°: 291, 196 y 239.

En una realización adicional, el anticuerpo modulador positivo se une al complejo insulina/receptor de insulina pero no de manera detectable al receptor de insulina no complejo. En una realización relacionada, el anticuerpo modulador positivo que se une al complejo insulina/receptor de insulina incluye, pero sin limitación, Ab059, Ab078, Ab085 o cualquier polipéptido que comprende una o más de las CDR correspondientes a uno cualquiera de los anticuerpos anteriores tal como se exponen en las tablas 1 y 2, o en una región variable de anticuerpo expuesta en las SEC ID N°: 128, 132 y las SEC ID N°: 267 y 271.

En un aspecto relacionado, el anticuerpo es un anticuerpo agonista. En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo agonista que se une al receptor de insulina con una afinidad de 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} M o menor, opcionalmente que muestra actividad agonista máxima que es del 20 %-100 % de la actividad agonista máxima de la insulina cuando se mide en un ensayo de pAKT. En una realización adicional, el anticuerpo es un anticuerpo agonista alostérico que se une al receptor de insulina con una afinidad de 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} M o menos y (a) muestra actividad agonista máxima que es del 20 %-80 % de la actividad agonista máxima de la insulina cuando se mide en un ensayo de pAKT, (b) cuando está presente no altera la CE_{50} de la insulina por INSR en más de 2 veces, y (c) cuando está presente no altera la K_D de la insulina por INSR en más de 2 veces.

En determinadas realizaciones, el anticuerpo agonista incluye, pero sin limitación, Ab021, Ab029, Ab022, Ab017, Ab023, Ab024, Ab025, Ab026, Ab031, Ab035, Ab027, Ab036, Ab037, Ab028, Ab038, Ab039, Ab040, Ab041, Ab042, Ab032, Ab043, Ab044, Ab045, Ab046, Ab047, Ab018, Ab033, Ab048, Ab014, Ab015, Ab049, Ab034, Ab051, Ab053, Ab054, Ab056, Ab058, Ab062, Ab064, Ab066, Ab067, Ab068, Ab086, Ab069, Ab071, Ab073, Ab075, Ab082, Ab084 o cualquier polipéptido que comprende una o más de las CDR correspondientes a uno cualquiera de los anticuerpos anteriores tal como se exponen en las tablas 1 y 2, o en una región variable de anticuerpo expuesta en las SEC ID N°: 7, 113, 114, 124, 126, 130 y las SEC ID N°: 164, 252, 253, 263, 265 y 269.

En un aspecto adicional, el anticuerpo se une al receptor de insulina o a un complejo que comprende insulina y

receptor de insulina con una constante de equilibrio de disociación K_D de 10^{-5} M o menos que es capaz de debilitar la afinidad de unión entre insulina y el receptor de insulina en al menos aproximadamente 3 veces, opcionalmente hasta 1000 veces. En una realización, el anticuerpo es un anticuerpo modulador negativo que debilita la afinidad de unión entre la insulina y el receptor de insulina. En una realización relacionada, el anticuerpo modulador negativo incluye, pero sin limitación, los siguientes anticuerpos: Ab087, Ab019, Ab088, Ab089, Ab020, Ab050, Ab052, Ab055, Ab057, Ab061, Ab063, Ab065, Ab070, Ab072, Ab074 y Ab081.

En un aspecto adicional, el anticuerpo es un anticuerpo que compite con cualquiera de los anticuerpos descritos en el presente documento por la unión al receptor de insulina o al complejo de insulina/receptor de insulina. En determinadas realizaciones, el anticuerpo muestra competición parcial. En una realización relacionada, la competición parcial es una competición de aproximadamente el 30 % al 70 %, de aproximadamente el 30 % al 80 %, o de aproximadamente el 30 %. 35 %, 40 %, 45 %, 50 %, 55 %, 60 %, 65 %, 70 %, 75 %, u 80 %. En algunas realizaciones, el anticuerpo muestra competición completa. En una realización, la competición completa es una competición de más del 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 % o 100 %. Los ensayos ejemplares para medir la competición del anticuerpo incluyen, pero sin limitación, ensayos de carga de receptor y ensayos de agrupación de epítopos, tal como se describen en el presente documento y en la técnica.

En una realización, el anticuerpo muestra una competición mayor o igual al 70 % con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab079, Ab076, Ab083, Ab080, Ab062, Ab020, Ab019, Ab088, y Ab089, y opcionalmente, muestra una competición mayor o igual al 30 % con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab086, Ab064, Ab001, y Ab018. En una realización adicional, el anticuerpo opcionalmente no compite con uno o más de Ab062 y Ab086. En determinadas realizaciones, el anticuerpo se une al receptor de insulina o al complejo tanto humano como murino.

En una realización adicional, el anticuerpo que compite con un anticuerpo descrito en el presente documento muestra una competición mayor o igual al 70 % con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab040, Ab062, Ab030, Ab001, y Ab018, y muestran opcionalmente una competición mayor o igual al 30 % con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab037, Ab078, Ab083, Ab080, y Ab085. En una realización relacionada, el anticuerpo no compite con Ab053, Ab064, 83-7, Ab019, Ab088, y Ab089. De manera opcional, el anticuerpo se une al receptor de insulina o al complejo humano o murino.

En una realización adicional, el anticuerpo que compite con un anticuerpo descrito en el presente documento muestra una competición mayor o igual al 70 % con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab030, Ab037, Ab053, Ab001, Ab018, Ab064, Ab040, y muestran opcionalmente una competición mayor o igual al 30 % con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab085 y Ab086. De manera opcional, el anticuerpo no muestra competición con Ab079, Ab076 y Ab088, y opcionalmente se une al receptor de insulina o al complejo tanto humano como murino.

En una realización adicional, el anticuerpo que compite con un anticuerpo descrito en el presente documento que muestra una competición mayor o igual al 70 % con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab064, Ab062, Ab085, y Ab078, y opcionalmente no muestra competición con Ab077, Ab001, Ab018, Ab030, Ab037, Ab079, Ab076, Ab083, Ab019, Ab088, Ab089, y Ab040. De manera opcional, el anticuerpo se une al receptor de insulina o al complejo tanto humano como murino.

En una realización adicional, el anticuerpo que compite con un anticuerpo descrito en el presente documento muestra una competición mayor o igual al 70 % con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab079, Ab076, Ab083, Ab080, Ab062, Ab020, Ab019, Ab088, Ab089. De manera opcional, el anticuerpo no muestra competición con Ab062, Ab086, Ab001, Ab018, Ab030, Ab037, Ab064; y opcionalmente, el anticuerpo solo es reactivo con ser humano, y no se une al receptor de insulina o al complejo murino.

En una realización adicional, el anticuerpo muestra una competición mayor o igual al 30 % con cualquier anticuerpo. De manera opcional, el anticuerpo muestra una competición mayor o igual al 30 % con Ab061, y opcionalmente tiene una competición menor del 30 % con Ab019 y Ab074. Opcionalmente no muestra competición con Ab088. De manera opcional, el anticuerpo se une con receptor o complejo tanto humano como murino.

En otra realización más, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada seleccionada entre el grupo que consiste en las SEC ID N°: 281, 278, 277, 209, 275, 223, 284, 276, y 236 y una región variable de cadena ligera seleccionada entre el grupo que consiste en las SEC ID N°: 141, 138, 137, 35, 135, 57, 144, 136, y 98.

En otra realización más, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada seleccionada entre el grupo que consiste en las SEC ID N°: 195, 220, 303, 197, 208, 243, 245 y 251 y una región variable de cadena ligera seleccionada entre el grupo que consiste en las SEC ID N°: 77, 50, 90, 84, 34, 104, 106 y 112.

En otra realización más, el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada seleccionada entre el grupo

que consiste en las SEC ID N°: 241, 279, 258, 155, y 228 y una región variable de cadena ligera seleccionada entre el grupo que consiste en las SEC ID N°: 103, 139, 119, 8, y 89.

Ácidos nucleicos de anticuerpo

5 La presente divulgación también abarca moléculas de ácido nucleico que codifican anticuerpos específicos de diana tal como se han descrito anteriormente. En algunas realizaciones, diferentes moléculas de ácido nucleico codifican una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera de un anticuerpo específico de diana. En otras realizaciones, la misma molécula de ácido nucleico codifica regiones variables de una cadena pesada y de una cadena ligera de un anticuerpo específico de diana. En una realización, el ácido nucleico codifica un anticuerpo específico de diana.

15 En un aspecto, una molécula de ácido nucleico comprende una secuencia de nucleótido que codifica la secuencia de aminoácidos de V_L expuesta en una cualquiera de las SEC ID N°: 1-150 o una porción de la misma. En un aspecto relacionado, la secuencia de aminoácidos de V_L es una secuencia consenso. En algunas realizaciones, el ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de las CDR de cadena ligera de dicho anticuerpo. En algunas realizaciones, dicha porción es una porción contigua que comprende CDR1-CDR3. En una realización, dicha porción comprende al menos una, dos o tres de una región CDR1, CDR2 o CDR3 de cadena ligera.

20 En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos V_L que es al menos un 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98 o 99 % idéntica a una secuencia de aminoácidos de V_L expuesta en las SEC ID N°: 1-150. Las moléculas de ácido nucleico incluyen ácidos nucleicos que hibridan en condiciones elevadamente rigurosas.

25 Se contempla además que una molécula de ácido nucleico de la divulgación comprenda una secuencia de nucleótidos que codifique la secuencia de aminoácidos de V_H de una cualquiera de las SEC ID N°: 151-303, o a una porción del mismo. En un aspecto relacionado, la secuencia de aminoácidos de V_H es una secuencia consenso. En algunas realizaciones, el ácido nucleico codifica la secuencia de aminoácidos de las CDR de cadena pesada de dicho anticuerpo. En algunas realizaciones, dicha porción es una porción contigua que comprende CDR1-CDR3 de cadena pesada. En una realización, dicha porción comprende al menos una, dos o tres de una región CDR1, CDR2 o CDR3 de cadena pesada.

35 En algunas realizaciones, la molécula de ácido nucleico codifica una secuencia de aminoácidos V_H que es al menos un 70 %, 75 %, 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % idéntica a una secuencia de aminoácidos de V_H expuesta en las SEC ID N°: 151-303. Las moléculas de ácido nucleico incluyen ácidos nucleicos que hibridan en condiciones elevadamente rigurosas.

40 Se contempla además que los ácidos nucleicos divulgados en el presente documento codifiquen una cadena ligera o cadena pesada de longitud completa de un anticuerpo que comprende una región variable de cadena pesada o de cadena ligera expuesta en las SEC ID N°: 1-303 y opcionalmente emparejadas como se describe en la tabla 3, en los que una cadena ligera de longitud completa o una cadena pesada de longitud completa comprenda una región constante de cadena ligera o una región constante de cadena pesada, respectivamente.

45 También se divulgan ácidos nucleicos que codifican variantes de anticuerpo y polipéptidos que comprenden regiones de unión a antígeno tal como se han descrito anteriormente.

Los métodos para preparar y aislar polinucleótidos que codifican anticuerpos proporcionados en el presente documento se conocen bien por los expertos en la materia. Un polinucleótido puede unirse a cualquiera de una diversidad de otras secuencias de nucleótidos mediante técnicas de ADN recombinante bien establecidas (véase Sambrook et al., (2ª Ed.; 1989) Molecular Cloning: A Laboratory Manual, Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, NY). Las secuencias de nucleótidos útiles para unirlos a polipéptidos incluyen un conjunto de vectores, *por ejemplo*, plásmidos cósmidos, derivados de fago lambda, fagémidos, y similares, que se conocen bien en la técnica. Por consiguiente, la divulgación también proporciona un vector que incluye un polinucleótido de la invención y una célula hospedadora que contiene el polinucleótido. En general, el vector contiene un origen de replicación funcional en al menos un organismo, sitios de endonucleasa de restricción convenientes, y un marcador de selección para la célula hospedadora. Los vectores incluyen vectores de expresión, vectores de replicación, vectores de generación de sonda, vectores de secuenciación, y vectores retrovirales. Una célula hospedadora puede ser una célula procarionota o eucariota y puede ser un organismo unicelular o parte de un organismo multicelular. Los expertos en la materia conocen grandes números de vectores y promotores adecuados y están disponibles comercialmente para generar las construcciones recombinantes de la presente divulgación.

Puede utilizarse una diversidad de vectores de expresión/sistemas de hospedador para contener y expresar la secuencia codificante. Estos incluyen, pero sin limitación, microorganismos, tales como bacterias transformadas con bacteriófago recombinante, vectores de expresión de ADN de plásmido, fagémido o cósmido; levaduras transformadas con vectores de expresión en levadura; sistemas de células de insecto infectadas con vectores de expresión víricos (por ejemplo, baculovirus); sistemas de células vegetales transfectadas con vectores de expresión

de virus (por ejemplo, virus del mosaico de la coliflor, CaMV; virus del mosaico del tabaco, TMV) o transformadas con vectores de expresión bacterianos (por ejemplo, plásmido Ti o pBR322); o incluso sistemas celulares animales. Las células de mamífero que son útiles en la producción de proteína recombinante incluyen, pero sin limitación, células VERO, células HeLa, células de ovario de hámster chino (CHO), células COS (tales como COS-7), WI38, BHK, HepG2, 3T3, RIN, MDCK, A549, PC12, K562 y células HEK 293.

Pueden generarse fácilmente variantes de polinucleótidos y fragmentos de anticuerpo por un trabajador experto para codificar fragmentos, variantes, o mutantes biológicamente activos de la molécula de anticuerpo de origen natural que posee la misma actividad biológica o similar que el anticuerpo de origen natural. Esto puede efectuarse mediante técnicas de PCR, corte y digestión de ADN que codifica las regiones de cadena pesada y ligera de anticuerpo, y similares. Por ejemplo, la mutagénesis puntual, usando PCR y otras técnicas bien conocidas en la materia, puede emplearse para identificar con particularidad qué restos de aminoácido son importantes en las actividades particulares asociadas con la actividad del anticuerpo. Por lo tanto, un experto en la materia será capaz de generar cambios de una sola base en la hebra de ADN para dar como resultado un codon alterado o una mutación de sentido perdido.

Fragmentos de anticuerpo

Los "fragmentos de anticuerpo" comprenden una porción de un anticuerpo intacto de longitud completa, preferentemente una región de unión a antígeno o variable del anticuerpo intacto. Los ejemplos de fragmentos de anticuerpo incluyen fragmentos Fab, Fab', F(ab')₂, y Fv; diacuerpos; anticuerpos lineales; moléculas de anticuerpo monocatenarias (por ejemplo, scFv); fragmentos de anticuerpo multiespecíficos, tales como biespecíficos, triespecíficos, etc. Anticuerpos (por ejemplo, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos); minicuerpos; anticuerpos recombinantes quelantes; tricuerpos o bicuerpos; intracuerpos; nanocuerpos; agentes inmunofarmacéuticos modulares pequeños (SMIP), proteínas de fusión de dominio de unión de inmunoglobulina; anticuerpos camelizados; anticuerpos que contienen V_{HH}; y otros polipéptidos formados a partir de fragmentos de anticuerpo. Véase, por ejemplo, Holliger y Hudson (Nat. Biotech. 23(9) 1126-36 (2005))

La digestión de papaína de anticuerpos produce dos fragmentos de unión a antígeno idénticos, llamados fragmentos "Fab", fragmentos monovalentes que consisten en los dominios V_L, V_H, C_L y C_H cada uno con un solo sitio de unión a antígeno, y un fragmento "Fc" residual, cuyo nombre refleja su capacidad para cristalizar fácilmente. El tratamiento con pepsina produce un fragmento F(ab')₂, un fragmento bivalente que comprende dos fragmentos Fab unidos mediante un puente disulfuro en la región bisagra, que tiene dos fragmentos de anticuerpo "Fv monocatenarios" o "scFv" que comprenden los dominios V_H y V_L del anticuerpo, en los que estos dominios están presentes en una sola cadena polipeptídica. Preferentemente, el polipéptido de Fv comprende además un enlazante polipeptídico entre los dominios V_H y V_L que permiten al Fv formar la estructura deseada para unirse al antígeno, dando como resultado un anticuerpo monocatenario (scFv), en el que se emparejan una región V_L y V_H para formar una molécula monovalente a través de un enlazador sintético que les permite producirse como una sola cadena de proteína (Bird et al., Science 242:423-426, 1988, y Huston et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 85:5879-5883, 1988). Para una revisión de los scFv véase Pluckthun, en The Pharmacology of Monoclonal Antibodies, vol. 1 13, Rosenberg and Moore eds., Springer-Verlag, Nueva York, págs. 269-315 (1994). Un fragmento Fc consiste en los dominios V_H y C_H1.

Los fragmentos de anticuerpo adicionales incluyen un fragmento de anticuerpo de dominio (dAb) (Ward et al., Nature 341:544-546, 1989) que consiste en un dominio V_H. Los diacuerpos son anticuerpos bivalentes en los que los dominios V_H y V_L se expresan en una sola cadena polipeptídica, pero usando un enlazador que es demasiado corto como para permitir el emparejamiento entre los dos dominios de la misma cadena, forzando de este modo a que se emparejen los dominios con dominios complementarios de otra cadena y creando dos sitios de unión a antígeno (véanse, por ejemplo, los documentos EP 404.097; WO 93/11161; Holliger et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-6448, 1993, y Poljak et al., Structure 2:1121-1123, 1994). Los diacuerpos pueden ser biespecíficos o monoespecíficos.

Los anticuerpos de cadena pesada funcionales desprovistos de cadenas ligeras son de origen natural en tiburones nodriza (Greenberg et al., Nature 374:168-73, 1995), tiburones bentónicos (Nuttall et al., Mol Immunol. 38:313-26, 2001) y el género de los *Camelidae* (Hamers-Casterman et al., Nature 363: 446-8, 1993; Nguyen et al., J. Mol. Biol. 275: 413, 1998), tales como camellos, dromedarios, alpacas y llamas. El sitio de unión a antígeno se reduce a un solo dominio, el dominio V_{HH}, en estos animales. Estos anticuerpos forman regiones de unión a antígeno que usan solo la región variable de cadena pesada, es decir, estos anticuerpos funcionales son homodímeros de cadenas pesadas que solo tienen la estructura H₂L₂ (citados como los "anticuerpo de cadena pesada" o "HCAbs"). Según se ha comunicado, V_{HH} de camélido se recombina con regiones constantes de IgG2 e IgG3 que contienen los dominios bisagra, CH2, y CH3 y carecen de un dominio CH1 (Hamers-Casterman et al., anteriormente citado). Por ejemplo, la IgG1 de llama es un isotipo de anticuerpo convencional (H₂L₂) en el que V_H se recombina con una región constante que contiene los dominios bisagra, CH1, CH2 y CH3, mientras que las IgG2 e IgG3 de llama son isotipos de cadena pesada que carecen de dominios CH1 y que no contienen cadenas ligeras. Se ha descubierto que los dominios V_{HH} de camélido se unen a antígenos con alta afinidad (Desmyter et al., J. Biol. Chem. 276:26285-90, 2001) y poseen una alta estabilidad en solución (Ewert et al., Biochemistry 41:3628-36, 2002). Los fragmentos solo de V_H clásicos son difíciles de producir en forma soluble, pero pueden obtenerse mejoras en la solubilidad y unión específica

cuando se alteran restos del armazón para que sean más semejantes a V_{HH} . (Véase, por ejemplo, Reichman, et al., J Immunol Methods 1999, 231:25-38). Los métodos para generar anticuerpos que tengan cadenas pesadas de camélido se describen en, por ejemplo, las Publicaciones de Patente de Estados Unidos n.º 20050136049 y 20050037421.

El dominio variable de una cadena pesada de anticuerpo tiene una masa molecular de 15 kDa, y se cita como un nanocuerpo (Cortez-Retamozo et al., Cancer Research 64:2853-57, 2004). Puede generarse una biblioteca de nanocuerpo a partir de un dromedario inmunizado, tal como se describe en Conrath et al., (Antimicrob Agents Chemother 45: 2807-12, 2001) o usando métodos recombinantes, tal como se describe en Revets et al., Expert Opin. Biol. Ther. 5(1): 111-24 (2005).

La producción de Fab-scFv biespecíficos ("bicuerpo") y Fab-(scFv)₂ trispecíficos ("tricuerpo") se describe en Schoonjans et al. (J Immunol. 165:7050-57, 2000) y Willems et al. (J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci. 786:161-76, 2003). Para los bicuerpos o tricuerpos, se fusiona una molécula scFv a una o ambas de las cadenas VL-CL (L) y VH-CH-i (Fd), por ejemplo, para producir un tricuerpo se fusionan dos scFv al extremo C-terminal de Fab mientras que en un bicuerpo se fusiona un scFv al extremo C-terminal de Fab.

Se ha descrito un "minicuerpo" que consiste en un scFv fusionado a CH3 mediante un enlazador peptídico (sin región bisagra) o a través de una región bisagra de IgG en Olafsen, et al., Protein Eng Des Sel. 2004 Apr;17(4):315-23.

Los intracuerpos son anticuerpos monocatenarios que demuestran expresión intracelular y pueden manipular la función proteica intracelular (Biocca, et al., EMBO J. 9:101-108, 1990; Colby et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 101:17616-21, 2004). Los intracuerpos, que comprenden secuencias de señalización celular que mantienen a la construcción de anticuerpo en regiones intracelulares, pueden producirse tal como se describe en Mhashikar et al. (EMBO J 14:1542-51, 1995) y Wheeler et al. (FASEB J. 17:1733-5, 2003). Los transcuerpos son anticuerpos permeables a células en las que un dominio de transducción de proteína (PTD) se fusiona con anticuerpos de fragmento variable monocatenarios (scFv); Heng et al., (Med Hypothesis. 64:1105-8, 2005).

Además se contemplan anticuerpos que son SMIP o proteínas de fusión de dominio de unión de inmunoglobulina específicas para un antígeno. Estas construcciones son polipéptidos monocatenarios que comprenden dominios de unión a antígeno fusionados a dominios de inmunoglobulina necesarios para llevar a cabo funciones efectoras de anticuerpo. Véase, por ejemplo, documento WO03/041600, la Publicación de Patente de Estados Unidos 20030133939 y la Publicación de Patente de Estados Unidos 20030118592.

Pueden incorporarse una o más CDR en una molécula ya sea covalentemente o no covalentemente para convertirla en una inmunoadhesina. Una inmunoadhesina puede incorporar las CDR como parte de una cadena polipeptídica más grande, puede unir covalentemente las CDR a otra cadena polipeptídica, o pueden incorporar las CDR de manera no covalente. Las CDR permiten a las inmunoadhesinas unirse específicamente a un antígeno de interés particular.

En otra realización más, el anticuerpo o el compuesto de unión a antígeno comprende una región constante y una o más regiones marco conservadas de región variable de cadena pesada y ligera de una secuencia de anticuerpo humana. En una realización relacionada, el anticuerpo comprende una región constante modificada o no modificada de una IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana.

Como alternativa, los fragmentos de anticuerpo pueden fusionarse a un armazón de proteína. Las bibliotecas de armazones de proteínas incluyen, pero sin limitación, adnectinas, aficuerpos, anticalinas, DARPins, inhibidores de tipo Kunitz diseñados por ingeniería genética, tetranectinas, proteínas de dominio A, lipocalinas, proteínas de repetición tales como proteínas de repetición de anquirina, proteínas de inmunidad, péptido a2p8, defensina A de insecto, dominios PDZ, caribdotoxinas, dedos de PHD, TEM-1 (3-lactamasa, dominios de fibronectina de tipo III, CTLA-4, receptores de linfocitos T, knottinas, neocarcinostatina, módulo 4-2 de unión a carbohidratos, proteína fluorescente verde, tiorredoxina (Gebauer y Skerra, Curr. Opin. Chem. Biol. 13:245-55 (2009); Gill y Damle, Curr. Opin. Biotech 17: 653-58 (2006); Hosse et al, Protein Sci. 15:14-27 (2006); Skerra, Curr. Opin. Biotech 18: 295-3-4 (2007)).

Por lo tanto, pueden generarse una diversidad de composiciones que comprenden una, dos y/o tres CDR de una región variable de cadena pesada o de una región variable de cadena ligera de un anticuerpo mediante técnicas conocidas en la materia.

Anticuerpos multiespecíficos

En algunas realizaciones, puede ser deseable generar anticuerpos multiespecíficos (por ejemplo, biespecíficos) que tienen especificidades de unión por al menos dos epítopos diferentes de las mismas o diferentes moléculas. Los anticuerpos biespecíficos ejemplares pueden unirse a dos epítopos diferentes del antígeno. Como alternativa, una rama específica de antígeno de anticuerpo puede combinarse con una rama que se une a una molécula de la

superficie celular, tal como una molécula receptora de linfocitos T (por ejemplo, CD2 o CD3), o receptores de Fc para IgG (FcγR), tales como FcγRI (CD64), FcγRII (CD32) y FcγRIII (CD16) para enfocar los mecanismos de defensa celular hacia el antígeno deseado. Los anticuerpos biespecíficos también pueden usarse para localizar agentes citotóxicos para células que expresan o captan el antígeno deseado. Estos anticuerpos poseen una rama de unión a antígeno y una rama que se une al agente citotóxico (por ejemplo, saporina, anti-interferón-60, alcaloides de la vinca, cadena A de ricina, metotrexato o un hapteno de isótopo radioactivo). Los anticuerpos biespecíficos pueden prepararse como anticuerpos de longitud completa o como fragmentos de anticuerpo) por ejemplo, anticuerpos biespecíficos F(ab')₂.

De acuerdo con otra estrategia para producir anticuerpos biespecíficos, la interfaz entre un par de moléculas de anticuerpo puede diseñarse mediante ingeniería genética para maximizar el porcentaje de heterodímeros que se recuperan del cultivo de células recombinantes. La interfaz preferida comprende al menos una parte del dominio C_H3 de un dominio constante de anticuerpo. En este método, una o más cadenas laterales de aminoácido pequeñas de la interfaz de la primera molécula de anticuerpo se reemplazan con cadenas laterales más grandes (por ejemplo, tirosina o triptófano). Se crean en la interfaz de la segunda molécula de anticuerpo "cavidades" compensatorias de tamaño similar o idéntico al de la cadena (o cadenas) lateral reemplazando cadenas laterales grandes de aminoácido por otras más pequeñas (por ejemplo, alanina o treonina). Esto proporciona un mecanismo para aumentar el rendimiento del heterodímero frente a otros productos finales no deseados, tales como homodímeros. Véase el documento WO96/27011 publicado el 6 de septiembre de 1996.

Los anticuerpos biespecíficos incluyen anticuerpos reticulados o "heteroconjugados". Por ejemplo, uno de los anticuerpos en el heteroconjugado puede acoplarse a avidina, el otro a biotina. Los anticuerpos heteroconjugados pueden prepararse usando cualquier método de reticulación conveniente. Se conocen bien en la materia agentes reticulantes adecuados, y se divulgan en la Patente de Estados Unidos n.º 4.676.980, junto con un número de técnicas de reticulación.

Las técnicas para generar anticuerpos biespecíficos a partir de fragmentos de anticuerpos también se han descrito en la bibliografía. Por ejemplo, pueden prepararse anticuerpos biespecíficos usando enlace químico. Brennan et al., (Sciences 229:81-83, 1985) describen un procedimiento en el que se escinden proteolíticamente anticuerpos intactos para generar fragmentos F(ab')₂. Estos fragmentos se reducen en presencia del agente formador de complejos de ditiol, arsenito de sodio, para estabilizar ditiolos vecinales y evitar la formación de disulfuros intermoleculares. Los fragmentos Fab' generados se convierten a derivados de tionitrobenzoato (TNB). Uno de los derivados Fab'-TNB se reconvierte al Fab'-tiol mediante reducción con mercaptoetilamina y se mezcla con una cantidad equimolar del otro derivado Fab'-TNB para formar el anticuerpo biespecífico. Los anticuerpos biespecíficos producidos pueden usarse como agentes para la inmovilización selectiva de enzimas. En una realización adicional más, los fragmentos Fab'-SH recuperados directamente de *E. coli* pueden acoplarse químicamente *in vitro* para formar anticuerpos biespecíficos. (Shalaby et al., J. Exp. Med. 175:217-225 (1992)).

Shalaby et al., J. Exp. Med. 175:217-225 (1992) describen la producción de una molécula de anticuerpo biespecífica F(ab')₂ totalmente humanizada. Cada fragmento Fab' se secretó por separado a partir de *E. coli* y se sometió a acoplamiento químico directo *in vitro* para formar el anticuerpo biespecífico. El anticuerpo biespecífico formado de este modo fue capaz de unirse a células que sobreexpresaban el receptor de HER2 y a linfocitos T humanos normales, así como de desencadenar la actividad lítica de los linfocitos citotóxicos humanos contra antígenos tumorales de mama humanos.

También se han descrito varias técnicas para preparar y aislar fragmentos de anticuerpo biespecíficos directamente a partir de cultivo de células recombinantes. Por ejemplo, se han producido anticuerpos biespecíficos usando cremalleras de leucina. (Kostelny et al., J. Immunol. 148:1547-1553, 1992). Los péptidos de cremallera de leucina de las proteínas Fos y Jun se unieron a las porciones de Fab' de dos anticuerpos diferentes mediante fusión génica. Los homodímeros de anticuerpo se redujeron en la región bisagra para formar monómeros y después se volvieron a oxidar para formar los heterodímeros de anticuerpo. Este método también puede utilizarse para la producción de homodímeros de anticuerpo. La tecnología de "diacuerpos" se describe por Hollinger et al., (Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:6444-48, 1993) ha proporcionado un mecanismo alternativo para preparar fragmentos de anticuerpo biespecíficos.

Los fragmentos comprenden una región variable de cadena pesada (V_H) conectada a una región variable de cadena ligera (V_L) a través de un enlazador que es demasiado corto como para permitir el emparejamiento entre los dos dominios en la misma cadena. Por consiguiente, se fuerza a los dominios V_H y V_L de un fragmento a emparejarse con los dominios V_L y V_H complementarios de otro fragmento, formando de este modo dos sitios de unión a antígeno. También se ha comunicado otra estrategia para preparar fragmentos de anticuerpo biespecíficos mediante el uso de dímeros monocatenarios de Fv (scFv). Véase Gruber et al., J. Immunol. 152: 5368 (1994).

Como alternativa, el anticuerpo biespecífico puede ser un "anticuerpo lineal" producido tal como se describe en Zapata et al. Protein Eng. 8:1057-62 (1995). Los anticuerpos lineales comprenden un par de segmentos Fd en tándem (V_H-C_H1-V_H-C_H1) que forman un par de regiones de unión a antígeno. Los anticuerpos lineales pueden ser biespecíficos o monoespecíficos.

En una realización adicional, el anticuerpo biespecífico puede ser un anticuerpo recombinante quelante (CRAb). Un anticuerpo recombinante quelante reconoce a epítomos adyacentes y no solapantes del antígeno, y es lo suficientemente flexible para unir ambos epítomos simultáneamente (Neri et al., J Mol Biol. 246:367-73, 1995).

- 5 También se contemplan anticuerpos con más de dos valencias. Por ejemplo, pueden prepararse anticuerpos triespecíficos. (Tutt et al., J. Immunol. 147:60, 1991).

Anticuerpos quiméricos y humanizados

- 10 Debido a que los anticuerpos quiméricos o humanizados son menos inmunogénicos en seres humanos que los anticuerpos monoclonales de ratón progenitores, pueden usarse para el tratamiento de seres humanos con mucho menos riesgo de anafilaxis.

15 Los anticuerpos monoclonales quiméricos, en los que se fusionan los dominios variables de Ig de un anticuerpo monoclonal de ratón a dominios constantes de Ig humanos, pueden generarse usando procedimientos convencionales conocidos en la técnica (véase Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6841-6855 (1984); y Boulianne et al, Nature 312:643-646, (1984)). Aunque se ha demostrado que algunos anticuerpos monoclonales quiméricos son menos inmunogénicos en seres humanos, los dominios variables de Ig de ratón pueden seguir dando lugar a una respuesta humana anti-ratón significativa.

20 Los anticuerpos humanizados pueden lograrse mediante una diversidad de métodos incluyendo, por ejemplo: (1) injertando las regiones determinantes de la complementariedad no humanas (CDR) en una región marco conservada y constante humana (un proceso citado en la técnica como humanización mediante "injerto de CDR") (2) trasplantando los dominios variables no humanos completos, pero "envolviéndolos" con una superficie similar a la humana mediante el reemplazo de restos superficiales (un proceso citado en la técnica como "chapado"), o como alternativa, (3) sustituyendo aminoácidos humanos en posiciones en las que se determina que es improbable que efectúen unión a antígeno o plegamiento de proteínas, pero probablemente reduzcan la inmunogenicidad en un ambiente humano (un proceso citado en la técnica como HUMAN ENGINEERING™). En la presente divulgación, los anticuerpos humanizados incluirán anticuerpos tanto "humanizados", "chapados" y "HUMAN ENGINEERED™".

25 Estos métodos de divulgan en, por ejemplo, Jones et al., Nature 321:522-525 (1986); Morrison et al., Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A., 81:6851-6855 (1984); Morrison y Oi, Adv. Immunol., 44:65-92 (1988); Verhoeyer et al., Science 239:1534-1536 (1988); Padlan, Molec. Immun. 28:489-498 (1991); Padlan, Molec. Immunol. 31:169-217 (1994); Kettleborough et al., Protein Eng. 4:773-783 (1991); Studnicka et al. la Patente de Estados Unidos n.º 5.766.886; Studnicka et al., (Protein Eng 7: 805-814, 1994) cada uno de los cuales se incorpora en este documento por

30 referencia en su totalidad.

Anticuerpos humanos de animales transgénicos

40 También pueden producirse anticuerpos humanos para antígenos usando animales transgénicos que no tienen producción de inmunoglobulina endógena y se modifican por ingeniería genética para que contengan locus de inmunoglobulina humanos. Por ejemplo, el documento WO 98/24893 divulga animales transgénicos que tienen locus de Ig humanos en los que los animales no producen inmunoglobulinas endógenas funcionales debido a la inactivación de los locus endógenos de cadena pesada y ligera. El documento WO 91/00906 también divulga hospedadores mamíferos no primates transgénicos capaces de armar una respuesta inmunitaria para un

45 inmunógeno, en los que los anticuerpos tienen regiones constantes y/o variables de primate, y en los que los locus que codifican inmunoglobulina endógena se sustituyen o inactivan. El documento WO 96/30498 y la Patente de Estados Unidos n.º 6.091.001 divulgan el uso del sistema Cre/Lox para modificar los locus de inmunoglobulina en un mamífero, para reemplazar la totalidad o una parte de la región constante o variable para formar una molécula de anticuerpo modificada. El documento WO 94/02602 divulga hospedadores mamíferos no humanos que tienen locus

50 de Ig endógenos y locus de Ig humanas funcionales. La Patente de Estados Unidos n.º 5.939.598 divulga métodos para producir ratones transgénicos en los que los ratones carecen de las cadenas pesadas endógenas, y expresan un locus de inmunoglobulina exógeno que comprende una o más regiones constantes xenogénicas. Véanse también las Patentes de los Estados Unidos n.º 6.114.598; 6.657.103 y 6.833.268.

55 Usando un animal transgénico descrito anteriormente, puede producirse una respuesta inmunitaria para un antígeno seleccionado, y pueden eliminarse las células productoras de anticuerpo del animal y usarse para producir hibridomas que secretan anticuerpos monoclonales humanos. Los protocolos de inmunización, adyuvantes y similares se conocen en la técnica, y se usan en la inmunización de, por ejemplo, un ratón transgénico, tal como se describe en el documento WO 96/33735. Esta publicación divulga anticuerpos monoclonales contra una diversidad

60 de antígenos que incluyen IL-6, IL-8, TNF α , CD4 humano, L-selectina, gp39, y toxoide tetánico. Los anticuerpos monoclonales pueden ensayarse respecto de la capacidad para inhibir o neutralizar la actividad biológica o el efecto fisiológico de la proteína correspondiente. El documento WO 96/33735 divulga que los anticuerpos monoclonales contra IL-8, procedentes de células inmunitarias de ratones transgénicos inmunizados con IL-8, bloquearon las funciones inducidas por IL-8 de los neutrófilos. Los anticuerpos monoclonales humanos con especificidad por el

65 antígeno usado para inmunizar animales transgénicos se divulgan en el documento WO 96/34096 y en la Solicitud de Patente de Estados Unidos n.º 20030194404; y en la Solicitud de Patente de los Estados Unidos n.º

20030031667.

Los animales transgénicos adicionales útiles para producir anticuerpos monoclonales incluyen el HuMAb-MOUSE® de Medarex, descrito en la Patente de Estados Unidos n.º 5.770.429 y en Fishwild, et al. (Nat. Biotechnol. 14:845-851 (1996)), que contiene secuencias génicas de genes de anticuerpos humanos no reordenados que codifican las cadenas pesadas y ligeras de anticuerpos humanos. La inmunización de un HuMAb-MOUSE® permite la producción de anticuerpos monoclonales completamente humanos para el antígeno.

También, Ishida et al. (Cloning Stem Cells. 4:91-102 (2002)) describen el TransChromo Mouse (TCMOUSE™) que comprende segmentos del tamaño de megabases de ADN humano y que incorpora los locus completos de inmunoglobulina humanos (hlg). El TCMOUSE™ tiene un repertorio completamente diverso de hlg, incluyendo todas las subclases de IgG (IgG1-G4). La inmunización del TCMOUSE™ con diversos antígenos humanos produce respuestas de anticuerpos que comprenden anticuerpos humanos.

Véase también Jakobovits et al., Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 90:2551 (1993); Jakobovits et al., Nature, 362:255-258 (1993); Bruggermann et al., Year in Immunol., 7:33 (1993); y la Patente de Estados Unidos n.º 5.591.669, la Patente de Estados Unidos n.º 5.589.369, la Patente de Estados Unidos n.º 5.545.807; y la Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20020199213. La Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20030092125 describe métodos para sesgar la respuesta inmunitaria de un animal hacia el epítipo deseado. También pueden generarse anticuerpos humanos mediante células B activadas *in vitro* (véanse las Patentes de Estados Unidos n.º 5.567.610 y 5.229.275).

Anticuerpos humanos a partir de tecnología de presentación

El desarrollo de tecnologías para producir repertorios de genes de anticuerpo humano recombinantes, y la presentación de los fragmentos de anticuerpo codificados sobre la superficie de bacteriófagos filamentosos, ha proporcionado un medio para producir directamente anticuerpos humanos. Los anticuerpos producidos mediante tecnología de fagos se producen como fragmentos de unión a antígeno, normalmente fragmentos Fv o Fab, en bacterias y por lo tanto carecen de funciones efectoras. Las funciones efectoras pueden introducirse mediante una de dos estrategias: Los fragmentos pueden diseñarse por ingeniería genética bien en anticuerpos completos para la expresión en células de mamífero, o en fragmentos de anticuerpo biespecíficos con un segundo sitio de unión capaz de desencadenar una función efectora.

También se divulga un método para producir un anticuerpo específico de antígeno o una porción de unión a antígeno del mismo que comprende las etapas de sintetizar una biblioteca de anticuerpos humanos en fagos, explorar la biblioteca con antígeno o una porción del mismo, aislar los fagos que se unen a antígeno, y obtener el anticuerpo a partir del fago. A modo de ejemplo, un método para preparar la biblioteca de anticuerpos para su uso en técnicas de presentación en fagos comprende las etapas de inmunizar a un animal no humano que comprende un locus de inmunoglobulina humano con antígeno o una porción antigénica del mismo para crear una respuesta inmunitaria, extraer las células productoras de anticuerpo a partir del animal inmunizado; aislar ARN de las células extraídas, retrotranscribir el ARN para producir ADNc, amplificar el ADNc usando un cebador, e insertar el ADNc en un vector de presentación en fagos de tal forma que los anticuerpos se expresan en el fago. Los anticuerpos específicos de antígeno recombinantes pueden obtenerse de este modo. En otro ejemplo, pueden extraerse células productoras de anticuerpo de animales no inmunizados, aislar el ARN de las células extraídas y retrotranscribirlo para producir ADNc, que se amplifica usando un cebador, e insertarlo en un vector de presentación en fagos de tal forma que los anticuerpos se expresan en el fago. Los procesos de presentación en fagos imitan la selección inmunitaria mediante la presentación de repertorios de anticuerpos sobre la superficie de bacteriófagos filamentosos, y la posterior selección de fagos según su unión a un antígeno de elección. Una técnica similar se describe en el documento WO 99/10494, que describe el aislamiento de anticuerpos agonistas de alta afinidad y funcionales para receptores MPL y msK usando dicha estrategia. Los anticuerpos de la invención pueden aislarse mediante exploración de una biblioteca de anticuerpo combinatoria recombinante, preferentemente una biblioteca de presentación en fago de scFv, preparada usando ADNc humanos de V_L y V_H preparados a partir de ARNm procedente de linfocitos humanos. Las metodologías para preparar y explorar dichas bibliotecas se conocen en la técnica. Véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos N° 5.969.108. Hay kits comercialmente disponibles para generar bibliotecas de presentación en fagos (por ejemplo, el sistema de anticuerpo de fago recombinante de Pharmacia, n.º de catálogo 27-9400-01; y el kit de presentación en fago SurfZAP.TM de Stratagene, n.º de catálogo 240612). También hay otros métodos y reactivos que pueden usarse para generar y explorar bibliotecas de presentación en fagos (véase, por ejemplo, Ladner et al. la Patente de Estados Unidos n.º 5.223.409; Kang et al. Publicación PCT n.º WO 92/18619; Dower et al. Publicación PCT n.º WO 91/17271; Winter et al. Publicación PCT n.º WO 92/20791; Markland et al. Publicación PCT n.º WO 92/15679; Breitling et al. Publicación PCT n.º WO 93/01288; McCafferty et al. Publicación PCT n.º WO 92/01047; Garrard et al. Publicación PCT n.º WO 92/09690; Fuchs et al. (1991) Bio/Technology 9:1370-1372; Hay et al. (1992) Hum. Antibod. Hybridomas 3:81-85; Huse et al. (1989) Science 246:1275-1281; McCafferty et al., Nature (1990) 348:552-554; Griffiths et al. (1993) EMBO J 12:725-734; Hawkins et al. (1992) J. Mol. Biol. 226:889-896; Clackson et al. (1991) Nature 352:624-628; Gram et al. (1992) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:3576-3580; Garrard et al. (1991) Bio/Technology 9:1373-1377; Hoogenboom et al. (1991) Nuc Acid Res 19:4133-4137; y Barbas et al. (1991) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:7978-7982.

En una realización, para aislar anticuerpos humanos específicos para un antígeno, con las características de unión deseadas, se explora una biblioteca de V_H y V_L humanos para seleccionar fragmentos de anticuerpo que tienen la especificidad deseada. Las bibliotecas de anticuerpos usadas en este método son preferentemente bibliotecas de scFv preparadas y exploradas tal como se describe en el presente documento y en la técnica (McCafferty et al., Publicación PCT n.º WO 92/01047, McCafferty et al., (Nature 348:552-554 (1990)); y Griffiths et al., (EMBO J 12:725-734 (1993)). Las bibliotecas de anticuerpo de scFv se exploran preferentemente usando el antígeno.

Como alternativa, el fragmento Fd (V_H - C_H1) y la cadena ligera de anticuerpos (V_L - C_L) se clonan por separado mediante PCR y se recombinan de manera aleatoria en bibliotecas de presentación en fagos combinatorias, que después pueden seleccionarse respecto de la unión a un antígeno particular. Los fragmentos Fab se expresan en la superficie del fago, es decir, se unen físicamente a los genes que los codifican. Por lo tanto, la selección de Fab mediante unión a antígeno selecciona conjuntamente respecto de las secuencias codificantes de Fab, que posteriormente pueden amplificarse. Mediante varias rondas de unión a antígeno y re-amplificación, un procedimiento denominado panning, los Fab específicos para el antígeno se enriquecen y finalmente aíslan.

En 1994, se describió una estrategia para la humanización de anticuerpos denominada "selección guiada". La selección guiada utiliza la potencia de la técnica de presentación en fagos para la humanización de anticuerpos monoclonales de ratón (véase Jaspers, L. S., et al., Bio/Technology 12, 899-903 (1994)). Para esto, el fragmento Fc del anticuerpo monoclonal de ratón puede presentarse en combinación con una biblioteca de cadena ligera humana, y la biblioteca de Fab híbrida resultante puede entonces seleccionarse con antígeno. El fragmento Fd de ratón proporciona de este modo un molde para guiar la selección. Posteriormente, las cadenas ligeras humanas seleccionadas se combinan con una biblioteca de fragmento Fd humano. La selección de la biblioteca resultante produce Fab completamente humanos.

Se ha descrito una diversidad de procedimientos para derivar anticuerpos humanos a partir de bibliotecas de presentación en fagos (véase, por ejemplo, Hoogenboom et al., J. Mol. Biol., 227:381 (1991); Marks et al., J. Mol. Biol., 222:581-597 (1991); la Patente de Estados Unidos n.º 5.565.332 y 5.573.905; Clackson, T., y Wells, J. A., TIBTECH 12, 173-184 (1994)). En particular, la selección y evolución *in vitro* de anticuerpos procedentes de bibliotecas de presentación en fagos se ha convertido en una herramienta potente (véase Burton, D. R., y Barbas III, C. F., Adv. Immuno. 57, 191-280 (1994); Winter, G., et al., Annu. Rev. Immunol. 12, 433-455 (1994); Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20020004215 y el documento WO 92/01047; Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20030190317; y las Patentes de Estados Unidos n.º 6.054.287 y 5.877.293.

Watkins, "Screening of Phage-Expressed Antibody Libraries by Capture Lift", Methods in Molecular Biology, Antibody Phage Display: Methods and Protocols 178:187-193 (2002), y la Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20030044772, publicada el 6 de marzo de 2003, describe métodos para explorar bibliotecas de anticuerpos expresadas en fagos u otras moléculas de unión mediante elevación de captura, un método que implica la inmovilización de las moléculas de unión candidatas sobre un soporte sólido.

Los fragmentos Fv se muestran sobre la superficie del fago, mediante la asociación de una cadena expresada en forma de una proteína de fusión de fago (por ejemplo, con gen III M13) expresándose la cadena complementaria en forma de un fragmento soluble. Se contempla que el fago pueda ser un fago filamentoso, tal como uno de la clase I de fagos: fd, M13, f1, f1, lke, ZJ/Z, Ff y uno de los fagos de clase II Xf, Pf1 y Pf3. El fago puede ser M13, o fd o un derivado de los mismos.

Una vez se han seleccionado los segmentos V_L y V_H humanos iniciales, pueden llevarse a cabo experimentos de "mezclado y emparejado", en los que se exploran diferentes pares de los segmentos V_L y V_H seleccionados inicialmente respecto de la unión al antígeno, para seleccionar combinaciones de parejas V_L/V_H preferidas. Además, para mejorar adicionalmente la calidad del anticuerpo, pueden mutarse al azar los segmentos V_L y V_H de los pares V_L/V_H preferidos, preferentemente dentro de cualquiera de las regiones CDR1, CDR2 o CDR3 de V_H y/o V_L , en un proceso análogo al proceso de mutación somática *in vivo* responsable de la maduración por afinidad de los anticuerpos durante una respuesta inmunitaria natural. Esta maduración por afinidad *in vitro* puede lograrse amplificando las regiones V_L y V_H usando cebadores de PCR complementarios a las CDR1, CDR2 y CDR3 de V_H , o a las CDR1, CDR2 y CDR3 de V_L , respectivamente, pudiendo añadirse estos cebadores "en pequeñas cantidades" con una mezcla aleatoria de las cuatro bases de nucleótidos a determinadas posiciones de tal forma que los productos de la PCR resultantes codifiquen segmentos V_L y V_H en los que se han introducido mutaciones al azar en las regiones CDR3 de V_H y/o V_L . Estos segmentos de V_L y V_H mutados al azar pueden volver a explorarse respecto de la unión al antígeno.

Después de la exploración y el aislamiento de un anticuerpo específico de antígeno a partir de una biblioteca de presentación de inmunoglobulina recombinante, el ácido nucleico que codifica el anticuerpo seleccionado puede recuperarse del paquete de presentación (por ejemplo, a partir del genoma del fago) y subclonarse en otros vectores de expresión mediante técnicas de ADN recombinante convencionales. Si se desea, el ácido nucleico puede manipularse adicionalmente para crear otras formas de anticuerpo, como se describe más adelante. Para expresar un anticuerpo humano recombinante aislado mediante exploración de una biblioteca combinatoria, el ADN que codifica el anticuerpo se clona en un vector de expresión recombinante y se introduce en una célula hospedadora de

mamífero, tal como se describe en el presente documento.

Se contempla que el método de presentación en fagos pueda llevarse a cabo en una cepa mutadora de bacteria o una célula hospedadora. Una cepa mutadora es una célula hospedadora que tiene un defecto genético que hace que el ADN replicado en esta esté mutado con respecto a su ADN progenitor. Las cepas mutadoras de ejemplo son NR9046mutD5 y NR9046mutT1.

También se contempla que pueda llevarse a cabo el método de presentación en fagos usando un fago auxiliar. Este es un fago que se usa para infectar células que contienen un genoma de fago defectuoso y que funcionan para complementar el defecto. El genoma de fago defectuoso puede ser un fagémido o un fago con algunas secuencias génicas codificantes de función eliminadas. Los ejemplos de fagos auxiliares son M13K07, M13K07 gen III n.º 3, hiperfago; y fagos que muestran o codifican una molécula fusionada a una proteína de la cápsida.

Los anticuerpos también pueden generarse mediante métodos de exploración de presentación en fagos usando la estrategia combinatoria dual jerárquica tal como se divulga en el documento WO 92/01047 en el que se usa una colonia individual que contiene un clon de cadena H o L para infectar una biblioteca completa de clones que codifican la otra cadena (L o H) y el miembro de unión específico de dos cadenas se selecciona de acuerdo con técnicas de presentación en fagos, tales como aquellas descritas en el mismo. Esta técnica también se divulga en Marks et al, (Bio/Technology, 10:779-783 (1992)).

Los métodos para la presentación de polipéptidos en la superficie de virus, levaduras, células microbianas y de mamífero también se han usado para identificar anticuerpos específicos de antígeno. Véase, por ejemplo, Patentes de Estados Unidos n.º 5.348.867; 5.723.287; 6.699.658; Wittrup, Curr. Op. Biotech. 12:395-99 (2001); Lee et al, Trends in Biotech. 21(1) 45-52 (2003); Surgeeva et al, Adv. Drug Deliv. Rev. 58: 1622-54 (2006). Las bibliotecas de anticuerpo pueden unirse a proteínas de levadura, tales como aglutinina, imitando de manera eficaz la presentación de la superficie celular de anticuerpos por células B en el sistema inmunitario.

Además de los métodos de presentación en fagos, los anticuerpos pueden aislarse usando métodos de presentación *in vitro* incluyendo presentación en ribosomas y presentación de ARNm (Amstutz et al, Curr. Op. Biotech. 12: 400-05 (2001)). La selección de polipéptidos usando presentación en ribosomas se describe en Hanes et al., (Proc. Natl Acad Sci USA, 94:4937-4942 (1997)) y en las Patentes de Estados Unidos n.º 5.643.768 y 5.658.754 asignadas a Kawasaki. La presentación en ribosomas también es útil para el análisis mutacional rápido a gran escala de anticuerpos. La estrategia de mutagénesis selectiva también proporciona un método para producir anticuerpos con actividades mejoradas que pueden seleccionarse usando técnicas de presentación en ribosomas.

Glucosilación alterada

También pueden producirse variantes de anticuerpo que tienen un patrón de glucosilación modificado en relación al anticuerpo progenitor, por ejemplo, eliminando uno o más restos de hidrato de carbono encontrados en el anticuerpo, y/o añadiendo uno o más sitios de glucosilación que no están presentes en el anticuerpo.

La glucosilación de anticuerpos es generalmente unida a N o unida a O. Unida a N se refiere a la unión del resto de carbohidrato en la cadena lateral de un resto de asparagina. Las secuencias de tripéptido asparagina-X-serina y asparagina-X-treonina, donde X es un aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para la unión enzimática del resto de carbohidrato a la cadena lateral de asparagina. La presencia de una de estas secuencias de tripéptido en un polipéptido crea un sitio potencial de glucosilación. Por lo tanto, los sitios de glucosilación unidos a N pueden añadirse a un anticuerpo alterando la secuencia de aminoácidos de tal forma que contiene una o más de estas secuencias de tripéptido. La glucosilación unida a O se refiere a la unión de uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa, o xilosa a un hidroxiaminoácido, más comúnmente serina o treonina, aunque también pueden usarse 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina. Los sitios de glucosilación unidos a O pueden añadirse a un anticuerpo insertando o sustituyendo uno o más restos de serina o treonina a la secuencia del anticuerpo original.

Los glucanos de Fc influyen la unión de IgG a receptores de Fc y a C1q, y por lo tanto son importantes para las funciones efectoras de IgG. Pueden producirse variantes de anticuerpo con glucanos de Fc modificados y función efectora modificada. Por ejemplo, los anticuerpos con azúcares terminales modificados, tales como ácido siálico, núcleo de fucosa, N-acetilglucosamina bisectante, y restos de manosa pueden tener unión alterada al receptor FcγRIIIa y actividad de ADCC alterada. En un ejemplo adicional, los anticuerpos con restos de galactosa terminal modificados pueden tener unión alterada a C1q y actividad de CDC alterada (Raju, Curr. Opin. Immunol. 20: 471-78 (2008)).

También se contemplan moléculas de anticuerpo con fucosilación ausente o reducida que muestran actividad de ADCC mejorada. Se conocen en la técnica una diversidad de formas para lograr esto. Por ejemplo, la actividad efectora de ADCC está mediada por la unión de la molécula de anticuerpo al receptor FcγRIII, lo que se ha demostrado que es dependiente de la estructura de hidratos de carbono de la glucosilación unida a N en el Asn-297 del dominio CH2. Los anticuerpos no fucosilados se unen a este receptor con afinidad aumentada y desencadenan

funciones efectoras mediadas por FcγRIII de manera más eficaz que los anticuerpos nativos fucosilados. Por ejemplo, la producción recombinante de anticuerpo no fucosilado en células CHO en las que la enzima alfa-1,6-fucosil transferasa se ha eliminado da como resultado un anticuerpo con un aumento de 100 veces en la actividad de ADCC (Yamane-Ohnuki et al., Bio-technol Bioeng. 87:614-22 (2004)). Pueden lograrse efectos similares disminuyendo la actividad de estas u otras enzimas en la ruta de fucosilación, por ejemplo, mediante tratamiento con ARNpi o ARN antisentido, explorando líneas celulares para eliminar las enzimas, o cultivando con inhibidores selectivos de la glucosilación (Rothman et al., Mol Immunol. 26:1113-23 (1989)). Algunas cepas de células hospedadoras, por ejemplo, Lec13 o la línea celular YB2/O de hibridoma de rata producen de manera natural anticuerpos con menores niveles de fucosilación. (Shields et al., J Biol Chem. 277:26733-40 (2002); Shinkawa et al., J Biol Chem. 278:3466-73 (2003)). Se ha determinado que un aumento en el nivel de hidrato de carbono biseccionado, por ejemplo, mediante la producción recombinante de anticuerpo en células que sobreexpresan la enzima GnTIII, aumenta la actividad de ADCC (Umana et al., Nat Biotechnol. 17:176-80 (1999)). Se ha predicho que la ausencia de solo uno de los dos restos de fucosa puede ser suficiente para aumentar la actividad de ADCC (Ferrara et al., Biotechnol Bioeng. 93:851-61 (2006)).

Variantes con función efectora alterada

Se contemplan otras modificaciones del anticuerpo. En un aspecto, puede ser deseable modificar el anticuerpo de la divulgación con respecto a la función efectora, por ejemplo, para potenciar la eficacia del anticuerpo para el tratamiento del cáncer (Natsume et al, Drug Design Dev't & Ther. 3: 7-16 (2009)). Las funciones efectoras ejemplares incluyen unión a C1q; CDC; unión a receptor Fc; ADCC; fagocitosis; regulación negativa de los receptores de la superficie celular (por ejemplo, receptor de células B; BCR), etc. Un método para modificar la función efectora enseña que pueden introducirse restos de cisteína en la región Fc, permitiendo de este modo la formación de enlaces disulfuro intercadena en esta región. El anticuerpo homodimérico generado de este modo puede tener una capacidad de internalización mejorada y/o una eliminación de células mediada por complemento y citotoxicidad dependiente de anticuerpo (ADCC) aumentada. Véase Caron et al., (J. Exp. Med. 176: 1191-1195 (1992)) y Shopes, B. (J. Immunol. 148: 2918-2922 (1992)). Los anticuerpos homodiméricos con actividad anti-tumoral potenciada también pueden prepararse usando reticulantes heterobifuncionales tal como se describen en Wolff et al., (Cancer Research 53: 2560-2565 (1993)). Como alternativa, puede modificarse por ingeniería genética un anticuerpo que tiene regiones Fc duales y puede de este modo potenciarse la lisis de complemento y las capacidades de ADCC. Véase Stevenson et al., (Anti-Cancer Drug Design 3: 219-230 (1989)). Además, se ha demostrado que las secuencias dentro de la CDR pueden hacer que un anticuerpo se una a la clase II del CMH y desencadenar una respuesta de células T colaboradoras no deseada. Una sustitución conservativa puede permitir al anticuerpo retener la actividad de unión pero perder su capacidad para desencadenar una respuesta de células T no deseada. Véase también Steplewski et al., (Proc Natl Acad Sci U S A. 85:4852-56 (1998)), que describe anticuerpos quiméricos en los que se unió una región variable murina con regiones constantes humanas gamma 1, gamma 2, gamma 3, y gamma 4.

Puede ser deseable usar un fragmento de anticuerpo, en lugar de un anticuerpo intacto, para aumentar la penetración en el tumor, por ejemplo. En este caso, puede ser deseable modificar el fragmento de anticuerpo para aumentar su semivida en suero, por ejemplo, añadiendo moléculas tales como PEG u otros polímeros solubles en agua, incluyendo polímeros de polisacáridos, a fragmentos de anticuerpo para aumentar la semivida. Esto también puede lograrse, por ejemplo, mediante la incorporación de un epítipo de unión a receptor salvaje en el fragmento de anticuerpo (por ejemplo, mediante mutación de la región adecuada en el fragmento de anticuerpo o incorporando el epítipo en un marcador peptídico que después se fusiona al fragmento de anticuerpo en cualquiera de los dos extremos o en medio, por ejemplo, mediante síntesis de ADN o peptídica) (véase, por ejemplo, el documento WO96/32478).

El epítipo de unión a receptor salvaje constituye preferentemente una región en la que uno cualquiera o más restos de aminoácidos de uno de los dos bucles de un dominio Fc se transfieren a una posición análoga del fragmento de anticuerpo. Aún más preferentemente, se transfieren tres o más restos de uno o dos bucles del dominio Fc. Todavía más preferentemente, el epítipo se extrae del dominio CH2 de la región Fc (por ejemplo, de una IgG) y se transfiere a la región CH1, CH3, o VH, o a más de una de dichas regiones del anticuerpo. Como alternativa, el epítipo se extrae del dominio CH2 de la región Fc y se transfiere a la región CL o a la región VL, o ambas, del fragmento de anticuerpo. Véanse también las solicitudes internacionales WO 97/34631 y WO 96/32478 que describen variantes de Fc y su interacción con el receptor salvaje.

Por lo tanto, los anticuerpos divulgados en el presente documento pueden comprender una porción Fc humana, una porción Fc consenso humana, o una variante de las mismas que mantenga la capacidad para interactuar con el receptor salvaje de Fc, incluyendo variantes en las que se modifican o eliminan las cisteínas implicadas en la formación de enlaces disulfuro, y/o en las que se añade una met en el extremo N-terminal y/o se eliminan uno o más de los 20 aminoácidos N-terminales, y/o se eliminan regiones que interactúan con el complemento, tales como el sitio de unión a C1q, y/o se elimina el sitio de ADCC [véase, por ejemplo, Sarmay et al., Molec. Immunol. 29:633-9 (1992)].

Estudios anteriores mapearon el sitio de unión en IgG humana y murina para FcR principalmente en la región

bisagra inferior compuesta de los restos 233-239 de IgG. Otros estudios propusieron amplios segmentos adicionales, por ejemplo, Gly316-Lys338 para el receptor I de Fc humano, Lys274-Arg301 y Tyr407-Arg416 para el receptor III de Fc humano, o descubrieron nuevos restos fuera de la bisagra inferior, por ejemplo, Asn297 y Glu318 para IgG2b murina que interactúa con el receptor II de Fc murino. El informe de la estructura cristalina de 3,2 Å del fragmento de Fc de IgG1 humana con receptor de Fc IIIA delineó los restos de IgG1 Leu234-Ser239, Asp265-Glu269, Asn297-Thr299, y Ala327-Ile332 como implicados en la unión al receptor de Fc IIIA. Se ha sugerido, basándose en la estructura cristalina que además de la bisagra inferior (Leu234-Gly237), los restos en los bucles FG del dominio CH2 de IgG (restos 326-330) y BC (restos 265-271) pueden desempeñar un papel en la unión al receptor de Fc IIA. Véase Shields et al., (J. Biol. Chem., 276:6591-604 (2001)), incorporado al presente documento por referencia en su totalidad. La mutación de restos dentro de los sitios de unión de receptor de Fc puede dar como resultado una función efectora alterada, tal como actividad de ADCC o de CDC alterada, o semivida alterada. Tal como se ha descrito anteriormente, las mutaciones potenciales incluyen inserción, eliminación o sustitución de uno o más restos, incluyendo sustitución con alanina, una sustitución conservativa, una sustitución no conservativa, o reemplazo con un resto de aminoácido correspondiente en la misma posición de una subclase de IgG diferente (por ejemplo, reemplazando un resto de IgG1 con un resto correspondiente de IgG2 en esa posición).

Shields et al. comunicaron que los restos de IgG1 implicados en la unión a todos los receptores de Fc humanos se localizan en el dominio CH2 proximal a la bisagra y se encuentran dentro de dos categorías del siguiente modo: 1) posiciones que pueden interactuar directamente con todos los FcR incluyen Leu234-Pro238, Ala327, y Pro329 (y posiblemente Asp265); 2) las posiciones que influyen la naturaleza del hidrato de carbono o la posición incluyen Asp265 y Asn297. Los restos de IgG1 adicionales que afectan a la unión al receptor II de Fc son los siguientes: (mayor efecto) Arg255, Thr256, Glu258, Ser267, Asp270, Flu272, Asp280, Arg292, Ser298, y (menor efecto) His268, Asn276, His285, Asn286, Lys290, Gln295, Arg301, Thr307, Leu309, Asn315, Lys322, Lys326, Pro331, Ser337, Ala339, Ala378, y Lys414. A327Q, A327S, P329A, D265A y D270A redujeron la unión. Además de los restos identificados anteriormente para todos los FcR, los restos de IgG1 adicionales que redujeron la unión al receptor IIA de Fc en un 40 % o más son los siguientes: Ser239, Ser267 (solo Gly), His268, Glu293, Gln295, Tyr296, Arg301, Val303, Lys338, y Asp376. Las variantes que mejoraron la unión a FcRIIIA incluyen T256A, K290A, S298A, E333A, K334A, y A339T. Lys414 que mostraron una reducción del 40 % en la unión para FcRIIA y FcRIIB, Arg416 una reducción del 30 % en la unión para FcRIIA y FcRIIIA, Gln419 una reducción del 30 % para FcRIIA y una reducción del 40 % para FcRIIB, y Lys360 una mejora del 23 % para FcRIIIA. Véase también Presta et al., (Biochem. Soc. Trans. 30:487-490, 2001), incorporado al presente documento por referencia en su totalidad, que describió varias posiciones en la región Fc de IgG1 que se halló que mejoraban la unión solo para determinados receptores de Fc gamma (R) o mejoraron simultáneamente la unión a un tipo de Fc gamma R y redujeron la unión a otro tipo. Las variantes de IgG1 con unión mejorada a Fc gamma RIIIA se ensayaron entonces en un ensayo de citotoxicidad celular dependiente de anticuerpo (ADCC) *in vitro* y mostraron una mejora de la ADCC cuando se usaron células mononucleares de sangre periférica o linfocitos citolíticos naturales.

Por ejemplo, la Patente de Estados Unidos n.º 6.194.551, incorporado al presente documento por referencia en su totalidad, describe variantes con función efectora alterada que contienen mutaciones en la región Fc de IgG, en las posiciones de aminoácidos 329, 331 o 322 (usando la numeración de Kabat), algunas de las cuales muestran unión reducida a C1q o actividad de CDC. Como otro ejemplo, la Patente de Estados Unidos n.º 6.737.056, incorporado al presente documento por referencia en su totalidad, describe variantes con función efectora o unión a receptor Fc-gamma alteradas que contienen mutaciones en la región Fc de IgG humana, en las posiciones de aminoácidos 238, 239, 248, 249, 252, 254, 255, 256, 258, 265, 267, 268, 269, 270, 272, 276, 278, 280, 283, 285, 286, 289, 290, 292, 294, 295, 296, 298, 301.303, 305, 307, 309, 312, 315, 320, 322, 324, 326, 327, 329, 330, 331.333, 334, 335, 337, 338, 340, 360, 373, 376, 378, 382, 388, 389, 398, 414, 416, 419, 430, 434, 435, 437, 438 o 439 (usando la numeración de Kabat), algunas de las cuales muestran perfiles de unión a receptores asociados con actividad de ADCC o de CDC reducidas. De estas, una mutación en las posiciones de aminoácidos 238, 265, 269, 270, 327 o 329 se afirma que reducen la unión a FcRI, una mutación en las posiciones de aminoácidos 238, 265, 269, 270, 292, 294, 295, 298, 303, 324, 327, 329, 333, 335, 338, 373, 376, 414, 416, 419, 435, 438 o 439 se afirma que reducen la unión a FcRII, y una mutación en las posiciones de aminoácidos 238, 239, 248, 249, 252, 254, 265, 268, 269, 270, 272, 278, 289, 293, 294, 295, 296, 301, 303, 322, 327, 329, 338, 340, 373, 376, 382, 388, 389, 416, 434, 435 o 437 se afirma que reducen la unión a FcRIII.

La Patente de Estados Unidos n.º 5.624.821, incorporado al presente documento por referencia en su totalidad, comunica que la actividad de unión a C1q de un anticuerpo murino puede alterarse mutando los restos de aminoácidos 318, 320 o 322 de la cadena pesada y que reemplazando el resto 297 (Asn) da como resultado la eliminación de la actividad lítica.

La Publicación de Patente de Estados Unidos n.º 20040132101, incorporado al presente documento por referencia en su totalidad, describe variantes con mutaciones en las posiciones de aminoácidos 240, 244, 245, 247, 262, 263, 266, 299, 313, 325, 328, o 332 (usando la numeración de Kabat) o las posiciones 234, 235, 239, 240, 241, 243, 244, 245, 247, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 269, 296, 297, 298, 299, 313, 325, 327, 328, 329, 330, o 332 (usando la numeración de Kabat), de las cuales, las mutaciones en las posiciones 234, 235, 239, 240, 241.243, 244, 245, 247, 262, 263, 264, 265, 266, 267, 269, 296, 297, 298, 299, 313, 325, 327, 328, 329, 330, o 332 pueden reducir la actividad de ADCC o reducir la unión a un receptor Fc gamma.

Chappel et al. (Proc Natl Acad Sci USA. 88:9036-40 (1991)), incorporado al presente documento por referencia en su totalidad, comunican que la actividad citofílica de IgG1 es una propiedad intrínseca de su dominio CH2 de cadena pesada. Las mutaciones puntuales en cualquiera de los restos de aminoácidos 234-237 de IgG1 redujeron significativamente o suprimieron su actividad. La sustitución de todos los restos 234-237 (LLGG) de IgG1 en IgG2 e IgG4 fue necesaria para restaurar la actividad de unión completa. Se observó que un anticuerpo de IgG2 que contiene la secuencia ELLGGP completa (restos 233-238) era más activo que la IgG1 de tipo silvestre.

Isaacs et al. (J Immunol. 161:3862-9 (1998)), incorporado al presente documento por referencia en su totalidad, comunica que las mutaciones en un motivo crítico para la unión a Fc gammaR (glutamato 233 a prolina, leucina/fenilalanina 234 a valina, y leucina 235 a alanina) previno completamente la eliminación de células diana. La mutación de glutamato 318 a alanina eliminó la función efectora de IgG2b de ratón y también redujo la potencia de IgG4 humana.

Armour et al. (Mol Immunol. 40:585-93 (2003)), incorporado al presente documento por referencia en su totalidad, identificaron variantes de IgG1 que reaccionan con el receptor activante, FcgammaRIIa, de una manera al menos 10 veces menos eficiente que IgG1 de tipo silvestre pero cuya unión al receptor inhibidor, FcgammaRIIb, se reduce únicamente cuatro veces. Se efectuaron mutaciones en la región de aminoácidos 233-236 y/o en las posiciones de aminoácidos 327, 330 y 331. Véase también el documento WO 99/58572, incorporado al presente documento por referencia en su totalidad.

Xu et al. (J Biol Chem. 269:3469-74 (1994)), incorporado al presente documento por referencia en su totalidad, comunica que mutar Pro331 de IgG1 a Ser redujo de manera destacada la unión a C1q y virtualmente eliminó la actividad lítica. Por el contrario, la sustitución de Pro por Ser331 en IgG4 confirió actividad lítica parcial (40 %) a la variante Pro331 de IgG4.

Schuurman et al. (Mol Immunol. 38:1-8 (2001)), incorporado al presente documento por referencia en su totalidad, comunican que mutando una de las cisteínas de la bisagra en la formación de enlace entre cadenas pesadas, Cys226, a serina dio como resultado un enlace entre las cadenas pesadas más estable. La mutación de la secuencia de la bisagra de IgG4 Cys-Pro-Scr-Cys a la secuencia de la bisagra de IgG1 Cys-Pro-Pro-Cys también estabiliza de manera destacada la interacción covalente entre las cadenas pesadas.

Angal et al. (Mol Immunol. 30:105-8 (1993)), incorporado al presente documento por referencia en su totalidad, comunican que mutar la serina en la posición de aminoácido 241 en IgG4 a prolina (encontrada en esa posición en IgG1 e IgG2) dio lugar a la producción de un anticuerpo homogéneo, así como extendió la semivida en suero y mejoró la distribución de en tejidos en comparación con la IgG4 quimérica original.

Modificaciones covalentes

Las modificaciones covalentes de los agentes de unión polipeptídicos divulgados en el presente documento, por ejemplo, anticuerpos, también se incluyen dentro del alcance de la presente divulgación. Pueden producirse mediante síntesis química o mediante escisión enzimática o química del agente de unión polipeptídico, en caso aplicable. Se introducen otros tipos de modificaciones covalentes del agente de unión polipeptídico en la molécula haciendo reaccionar restos de aminoácidos diana del agente de unión polipeptídico con un agente derivatizante orgánico que es capaz de reaccionar con cadenas laterales seleccionadas en los restos N o C-terminales.

Normalmente, se hacen reaccionar los restos de cisteinilo con α -haloacetatos (y las aminas correspondientes), tales como ácido cloroacético y cloroacetamida, para dar derivados de carboximetilo o carboxiamidometilo. Los restos de cisteinilo también se derivatizan mediante reacción con bromotrifluoroacetona, ácido α -bromo- β -(5-imidozoi)propiónico, fosfato de cloroacetilo, N-alquilmaleimidas, disulfuro de 3-nitro-2-piridilo, disulfuro de metil-2-piridilo, β -cloromercuriobenzoato, 2-cloromercuro-4-nitrofenol, o cloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol.

Los restos de histidilo se derivatizan mediante reacción con pirocarbonato de dietilo a pH 5,5-7,0 porque este agente es relativamente específico para la cadena lateral de histidilo. También es útil el bromuro de para-bromofenacilo; la reacción se lleva a cabo preferentemente en cacodilato sódico 0,1 M a pH 6,0.

Los restos de lisinilo y amino-terminales se hacen reaccionar con anhídridos succínicos o de otros ácidos carboxílicos. La derivatización con estos agentes tiene el efecto de revertir la carga de los restos de lisinilo. Otros reactivos adecuados para derivatizar restos que contienen α -amino incluyen imidoésteres, tales como picolinimidato de metilo, fosfato de piridoxal, piridoxal, cloroborohidruro, ácido trinitrobenzenosulfónico, O-metilisourea, 2,4-pentanodiona, y reacción catalizada por transaminasa con glioxilato.

Los restos de arginilo se modifican mediante reacción con uno o varios agentes convencionales, entre ellos fenilglioxal, 2,3-butanodiona, 1,2-ciclohexanodiona, y ninhidrina. La derivatización de restos de arginina requiere que la reacción se lleve a cabo en condiciones alcalinas debido al elevado pK_a del grupo funcional de guanidina. Además, estos reactivos pueden reaccionar con los grupos de lisina así como con el grupo ϵ -amino de arginina.

Puede efectuarse la modificación específica de restos tirosilo, con particular interés en la introducción de marcadores espectrales en restos tirosilo mediante reacción con compuestos de diazonio aromáticos o tetranitrometano. Más comúnmente, se usan N-acetilimidazol y tetranitrometano para formar especies de O-acetil tirosilo y derivados de 3-nitro, respectivamente. Los restos de tirosilo se yodan usando ¹²⁵I o ¹³¹I para preparar proteínas marcadas para su uso en radioinmunoensayos.

Los grupos carboxilo laterales (aspartilo o glutamilo) se modifican de manera selectiva mediante reacción con carbodiimidas (R-N=C=N-R'), donde R y R' son grupos alquilo diferentes, tales como 1-ciclohexil-3-(2-morfolinil-4-etil) carbodiimida o 1-etil-3-(4-azonia-4,4-difenilmetil)carbodiimida. Además, los restos aspartilo y glutamilo se convierten en restos asparaginilo y glutaminilo mediante reacción con iones amonio.

Los restos glutaminilo y asparaginilo frecuentemente se desamidán a los correspondientes restos glutamilo y aspartilo, respectivamente. Estos restos se desamidán en condiciones neutras o básicas. La forma desamidada de estos restos se encuentra dentro del alcance de la presente divulgación.

Otras modificaciones incluyen hidroxilación de prolina y lisina, la fosforilación de grupos hidroxilo de restos de serilo o treonilo, metilación de los grupos α-amino de las cadenas laterales de lisina, arginina, e histidina (T. E. Creighton, *Proteins: Structure and Molecular Properties*, W.H. Freeman & Co., San Francisco, págs. 79-86 (1983)), la acetilación de la amina N-terminal, y la amidación de cualquier grupo carboxilo C-terminal.

Otro tipo de modificación covalente implica acoplar química o enzimáticamente glucósidos al agente de unión polipeptídico. Estos procedimientos son ventajosos en tanto que no requieren de la producción del agente de unión polipeptídico en una célula hospedadora que tiene capacidades de glucosilación para la glucosilación unida a N o a O. Dependiendo del modo de acoplamiento usado, los azúcares pueden unirse a (a) arginina e histidina, (b) grupos carboxilo libres, (c) grupos sulfhidrilo libres, tales como aquellos de cisteína, (d) grupos hidroxilo libres, tales como aquellos de serina, treonina, o hidroxiprolina, (e) restos aromáticos, tales como aquellos de fenilalanina, tirosina, o triptófano, o (f) el grupo amida de glutamina. Estos métodos se describen en el documento WO 87/05330 y en Aplin y Wriston, (*CRC Crit. Rev. Biochem.*, págs. 259-306 (1981)).

La eliminación de cualquier resto de carbohidrato presente en el agente de unión polipeptídico puede lograrse química o enzimáticamente. La desglucosilación química requiere de la exposición del agente de unión polipeptídico al compuesto ácido trifluorometanosulfónico, o a un compuesto equivalente. Este tratamiento da como resultado la escisión de la mayoría o todos los azúcares salvo el azúcar enlazante (N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina), mientras que se deja intacta la unión del polipéptido. La desglucosilación química se describe por Hakimuddin, et al., (*Arch. Biochem. Biophys.* 259: 52 (1987)) y por Edge et al., (*Anal. Biochem.* 118: 131 (1981)). La escisión enzimática de restos de carbohidrato en los agentes de unión polipeptídicos puede lograrse mediante el uso de una diversidad de endo y exoglucosidas, tal como se describe por Thotakura et al., (*Meth. Enzymol.* 138: 350 (1987)).

Otro tipo de modificación covalente del agente de unión polipeptídico comprende unir el agente de unión polipeptídico a uno de una diversidad de restos hidrófobos o polímeros no proteicos, por ejemplo, polietilenglicol, polipropilenglicol, polioles polioxiethylados, sorbitol polioxiethylado, glucosa polioxiethylada, glicerol polioxiethylado, polioxiethylados, o polímeros de polisacáridos, tales como dextrano. Dichos métodos se conocen en la técnica, véanse, por ejemplo, las Patentes de Estados Unidos n.º 4.640.835; 4.496.689; 4.301.144; 4.670.417; 4.791.192, 4.179.337, 4.766.106, 4.179.337, 4.495.285, 4.609.546 o EP 315 456.

Derivados

Un derivado se refiere a agentes de unión polipeptídicos, incluyendo anticuerpos, modificados químicamente mediante técnicas tales como ubiquitinación, marcaje (por ejemplo, con radionúclidos o diversas enzimas), unión covalente de polímeros, tal como pegilación derivatización con polietilenglicol) e inserción o sustitución mediante síntesis química de aminoácidos, tales como ornitina. Los derivados de los agentes de unión polipeptídicos divulgados en el presente documento, tales como un anticuerpo, también son útiles como agentes terapéuticos y pueden producirse mediante el método de la divulgación.

El resto conjugado puede incorporarse en o unirse a un agente de unión polipeptídico ya sea de manera covalente, o mediante enlaces iónicos, de van der Waals o de hidrógeno, por ejemplo, incorporación de nucleótidos radioactivos, o nucleótidos biotinilados que se reconocen mediante estreptavidina.

Puede unirse polietilenglicol (PEG) a los agentes de unión polipeptídicos para proporcionar una semivida *in vivo* más prolongada. El grupo de PEG puede ser de cualquier peso molecular conveniente y puede ser lineal o ramificado. El peso molecular promedio del PEG oscilará preferentemente entre aproximadamente 2 kiloDalton ("kD") a aproximadamente 100 kDa, más preferentemente de aproximadamente 5 kDa a aproximadamente 50 kDa, lo más preferentemente de aproximadamente 5 kDa a aproximadamente 10 kDa. Los grupos de PEG se acoplarán generalmente a los agentes de unión polipeptídicos mediante acilación o alquilación reductora a través de un grupo reactivo natural o diseñado en el resto de PEG (por ejemplo, un grupo aldehído, amino, tiol, o éster) a un grupo

reactivo en el agente de unión polipeptídico (por ejemplo, un grupo aldehído, amino, o éster). La adición de grupos PEG a agentes de unión polipeptídicos puede llevarse a cabo usando técnicas bien conocidas en la materia. Véase, por ejemplo, la Publicación Internacional n.º WO 96/11953 y la Patente de Estados Unidos n.º 4.179.337.

- 5 El ligamiento del agente de unión polipeptídico con PEG tiene lugar normalmente en fase acuosa y puede controlarse fácilmente mediante HPLC analítica en fase reversa. Las sustancias PEGiladas se purifican mediante HPLC preparativa y se caracterizan mediante HPLC analítica, análisis de aminoácidos y espectrometría de masas de desorción láser.

10 *Conjugados de anticuerpos*

Un agente de unión polipeptídico puede administrarse en su forma "desnuda" o no conjugada, o puede conjugarse directamente a otros agentes terapéuticos o diagnósticos, o puede conjugarse indirectamente a polímeros portadores que comprenden dichos otros agentes terapéuticos o diagnósticos. En algunas realizaciones, el agente de unión polipeptídico se conjuga a un agente citotóxico, tal como un agente quimioterapéutico, un fármaco, un agente inhibidor del crecimiento, una toxina (por ejemplo, una toxina enzimáticamente activa de origen bacteriano, fúngicos, vegetal, o animal, o fragmentos de las mismas), o un isótopo radioactivo (es decir, un radioconjugado). Los agentes quimioterapéuticos adecuados incluyen daunomicina, doxorubicina, metotrexato, y vindesina (Rowland et al., (1986) mencionado anteriormente). Las toxinas adecuadas incluyen: toxinas bacterianas, tales como toxina de la difteria; toxinas vegetales, tales como ricina; toxinas de molécula pequeña, tales como geldanamicina (Mandler et al J. Natl. Cancer Inst. 92(19):1573-81 (2000); Mandler et al., Bioorg. Med. Chem. Letters 10:1025-1028 (2000); Mandler et al., Bioconjugate Chem. 13:786-91 (2002)), maitansinoides (documento EP 1391213; Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-23 (1996)), auristatinas (Doronina et al., Nat. Biotech. 21: 778-84 (2003) y caliceamicina (Lode et al., Cancer Res. 58:2928 (1998); Hinman et al., Cancer Res. 53:3336-3342 (1993)).

Los agentes de unión polipeptídicos pueden marcarse de manera detectable mediante el uso de radioisótopos, marcadores de afinidad (tales como biotina, avidina, etc.), marcadores enzimáticos (tales como peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, etc.) marcadores fluorescentes o luminiscentes o bioluminiscentes (tales como FITC o rodamina, etc.), átomos paramagnéticos, y similares. Los procedimientos para lograr dicho marcado se conocen bien en la técnica; por ejemplo, véase (Sternberger, L.A. et al., J. Histochem. Cytochem. 18:315 (1970); Bayer, E.A. et al., Meth. Enzym. 62:308 (1979); Engval, E. et al., Immunol. 109:129 (1972); Goding, J.W. J. Immunol. Meth. 13:215 (1976)).

La conjugación de agentes de unión polipeptídicos se describe en la Patente de Estados Unidos n.º 6.306.393. También se describen técnicas generales en Shih et al., Int. J. Cancer 41:832-839 (1988); Shih et al., Int. J. Cancer 46:1101-1106 (1990); y Shih et al., la Patente de Estados Unidos n.º 5.057.313. Este método general implica hacer reaccionar un componente de agente de unión polipeptídico que tiene una porción de hidrato de carbono oxidada con un polímero transportador que tiene al menos una función amino libre que se carga con una diversidad de añadidos de fármaco, toxina, quelante, boro, u otro agente terapéutico. Esta reacción da como resultado una unión de base de Schiff inicial (imina), que puede estabilizarse mediante reducción a una amina secundaria para formar el conjugado final.

El polímero transportador puede ser, por ejemplo, un aminodextrano o polipéptido de al menos 50 restos de aminoácidos. Se conocen en la técnica diversas técnicas para conjugar un fármaco u otro agente al polímero transportador. Puede usarse un polipéptido transportador en lugar de aminodextrano, pero el polipéptido transportador debe tener al menos 50 restos de aminoácidos en la cadena, preferentemente 100-5000 restos de aminoácidos. al menos algunos de los aminoácidos deben ser restos de lisina o glutamato o restos de aspartato. Las aminas colgantes de restos de lisina y carbohidratos colgantes de glutamina y aspartato son convenientes para unir un fármaco, toxina, inmunomodulador, quelante, añadido de boro u otro agente terapéutico. Los ejemplos de transportadores polipeptídicos adecuados incluyen polilisina, ácido poliglutámico, ácido poliaspártico, copolímeros de los mismos, y polímeros mixtos de estos aminoácidos y otros, por ejemplo, serinas, para conferir propiedades de solubilidad deseables en el portador y conjugado cargados resultantes.

Como alternativa, los agentes de unión polipeptídicos conjugados pueden prepararse conjugando directamente un componente de agente de unión polipeptídico con un agente terapéutico. El procedimiento general es análogo al método de conjugación indirecto excepto en que se une directamente un agente terapéutico a un componente de agente de unión polipeptídico oxidado. Por ejemplo, puede unirse un resto de hidrato de carbono de un agente de unión polipeptídico a polietilenglicol para extender la semivida.

Como alternativa, puede unirse un agente terapéutico en la región diana de un componente de anticuerpo reducido a través de la formación de enlaces disulfuro, o usando un reticulador heterobifuncional, tal como 3-(2-piridiltio)propionato de N-succinilo (SPDP). Yu et al., Int. J. Cancer 56:244 (1994). Las técnicas generales para dicha conjugación se conocen bien en la técnica. Véase, por ejemplo, Wong, Chemistry Of Protein Conjugation and Cross-Linking (CRC Press 1991); Upeslakis et al., "Modification of Antibodies by Chemical Methods," en Monoclonal Antibodies: Principles and Applications, Birch et al. (eds), páginas 187-230 (Wiley-Liss, Inc. 1995); Price, "Production and Characterization of Synthetic Peptide-Derived Antibodies," in Monoclonal Antibodies: Production,

Engineering and Clinical Application, Ritter et al. (eds.), páginas 60-84 (Cambridge University Press 1995). Se conocen en la técnica una diversidad de agentes de acoplamiento de proteínas bifuncionales, tales como 3-(2-piridiltiol)propionato de N-succinimidilo (SPDP), iminotiolano (IT), derivados bifuncionales de imidoésteres (tales como adipimidato de dimetilo HCl), ésteres activos (tales como suberato de disuccinimidilo), aldehídos (tales como glutaraldehído), compuestos bis azido (tales como (p-azidobenzoil) hexanediamina), derivados de bis-diazonio (tales como bis-(p-diazoniobenzoil)-etilendiamina), diisocianatos (tales como 2,6-diisocianato de tolueno), y compuestos de flúor bis-activos (tales como 1,5-difluoro-2,4-dinitrobenzoceno).

Proteínas de fusión de anticuerpo

Se conocen bien en la técnica métodos para producir proteínas de fusión de anticuerpo. Véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 6.306.393. Las proteínas de fusión de anticuerpo que comprenden un resto de interleucina-2 se describen por Boleti et al., Ann. Oncol. 6:945 (1995), Nicolet et al., Cancer Gene Ther. 2:161 (1995), Becker et al., Pro. Nat'l Acad. Sci. USA 93:7826 (1996), Hank et al., Clin. Cancer Res. 2:1951 (1996), y Hu et al., Cancer Res. 56:4998 (1996). Además, Yang et al., (Hum. Antibodies Hybrdomas 6:129 (1995)), describen una proteína de fusión que incluye un fragmento F(ab')₂ y un resto de factor de necrosis tumoral alfa. Los ejemplos adicionales de proteínas de fusión de anticuerpo se describen por Pastan et al, Nat. Reviews Cancer 6: 559-65 (2006).

Los métodos para producir proteínas de fusión de anticuerpo-toxina en las que una molécula recombinante comprende uno o más componentes de anticuerpo y una toxina o agente quimioterapéutico también se conocen por los expertos en la materia. Por ejemplo, se han descrito proteínas de fusión de anticuerpo-exotoxina A de *Pseudomonas* por Chaudhary et al., Nature 339:394 (1989), Brinkmann et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 88:8616 (1991), Batra et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 89:5867 (1992), Friedman et al., J. Immunol. 150:3054 (1993), Wels et al., Int. J. Can. 60:137 (1995), Fominaya et al., J. Biol. Chem. 271:10560 (1996), Kuan et al., Biochemistry 35:2872 (1996), y Schmidt et al., Int. J. Can. 65:538 (1996). Las proteínas de fusión anticuerpo-toxina que contienen un resto de toxina de la difteria se han descrito por Kreitman et al., Leukemia 7:553 (1993), Nicholls et al., J. Biol. Chem. 268:5302 (1993), Thompson et al., J. Biol. Chem. 270:28037 (1995), y Valleria et al., Blood 88:2342 (1996). Deonarain et al., Tumor Targeting 1:177 (1995), han descrito una proteína de fusión anticuerpo-toxina que tiene un resto de RNasa, mientras que Linardou et al., Cell Biophys. 24-25:243 (1994), produjeron una proteína de fusión anticuerpo-toxina que comprende un componente de DNasa I. Se usó gelonina como resto de toxina en la proteína de fusión anticuerpo-toxina de Wang et al., Abstracts of the 209th ACS National Meeting, Anaheim, Calif., 2-6 de abril, 1995, Parte 1, BIOT005. Como ejemplo adicional, Dohlstien et al., Proc. Nat'l Acad. Sci. USA 91:8945 (1994), comunicaron una proteína de fusión anticuerpo-toxina que comprende enterotoxina A estafilocócica.

Los ejemplos ilustrativos de toxinas que se emplean de manera adecuada en la preparación de dichas proteínas de fusión son ricina, abrina, ribonucleasa, DNasa I, enterotoxina estafilocócica A, proteína antiviral de la hierba carmín, gelonina, toxina diftérica, exotoxina de pseudomonas, y endotoxina de pseudomonas. Véase, por ejemplo, Pastan et al., Cell 47:641 (1986), y Goldenberg, CA--A Cancer Journal for Clinicians 44:43 (1994). Los expertos en la materia conocen otras toxinas adecuadas.

Los anticuerpos divulgados en el presente documento también pueden usarse en ADEPT conjugando el anticuerpo a una enzima activadora de profármaco que convierte un profármaco (por ejemplo, un agente quimioterapéutico de peptidilo, véase el documento WO 81/01145) a un fármaco anti-cáncer activo. Véase, por ejemplo, el documento WO 88/07378 y la Patente de Estados Unidos n.º 4.975.278.

El componente enzimático del inmunconjugado útil para ADEPT incluye cualquier enzima capaz de actuar en un profármaco de tal forma que lo convierte en su forma más activa citotóxica.

Las enzimas que son útiles incluyen, pero sin limitación: fosfatasa alcalina; arilsulfatasa; citosina desamidasa, 5-fluorouracilo; proteasas, tales como proteasa de *Serratia*, termolisina, subtilisina, carboxipeptidasas y catepsinas (tales como las catepsinas B y L); D-alanilcarboxipeptidasas; enzimas escisoras de hidratos de carbono, tales como β -galactosidasa y neuraminidasa; β -lactamasa; y amidasas de penicilina, tales como amidasa de penicilina V o amidasa de penicilina G. Como alternativa, los anticuerpos con actividad enzimática, también conocidos en la técnica como abzimas, pueden usarse para convertir los profármacos en fármacos activos libres (véase, por ejemplo, Massey, Nature 328: 457-458 (1987). Los conjugados anticuerpo-abzima pueden prepararse tal como se describe en el presente documento para administrar la abzima a una población de células tumorales.

Las enzimas anteriores pueden unirse covalentemente a los anticuerpos mediante técnicas bien conocidas en la técnica tal como el uso de los reactivos de reticulación heterobifuncionales discutidos anteriormente. Como alternativa, las proteínas de fusión que comprenden al menos la región de unión a antígeno de un anticuerpo divulgado en el presente documento unidas a al menos una porción funcionalmente activa de una enzima divulgada en el presente documento pueden construirse usando técnicas de ADN recombinantes bien conocidas en la técnica (véase, por ejemplo, Neuberger et al., Nature 312: 604-608 (1984)).

Preparación de variantes de secuencias de aminoácidos

Se contempla que se generen composiciones de polipéptidos que comprenden una, dos, tres, cuatro, cinco, y/o seis CDR de un anticuerpo o agente de unión polipeptídico, en el que se altera una región CDR o no CDR para proporcionar especificidad o afinidad aumentada por el antígeno, o para proporcionar modulación aumentada de la afinidad de unión entre la diana y su compañero de señalización. Por ejemplo, los sitios dentro de las CDR de anticuerpo se modifican normalmente en series, por ejemplo, sustituyendo en primer lugar con selecciones conservativas (por ejemplo, un aminoácido hidrófobo sustituido por un aminoácido hidrófobo no idéntico) y después con más selecciones no similares (por ejemplo, un aminoácido hidrófobo sustituido por un aminoácido cargado), y después pueden producirse eliminaciones o inserciones en el sitio diana. Se contempla que las sustituciones conservativas dentro de la CDR permitan que la región variable retenga la actividad biológica. Por ejemplo, usando las secuencias estructurales conservadas que rodean a las CDR, se generan cebadores de PCR complementarios para estas secuencias consenso para amplificar la secuencia de CDR específica de antígeno localizada entre las regiones de cebador. Las técnicas para clonar y expresar secuencias de nucleótidos y polipéptidos están bien establecidas en la materia [véase, por ejemplo, Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2ª edición, Cold Spring Harbor, Nueva York (1989)]. Las secuencias de CDR amplificadas se ligan en un plásmido adecuado. El plásmido que comprende una, dos, tres, cuatro, cinco y/o seis CDR clonadas contiene opcionalmente regiones codificantes de polipéptidos adicionales unidas a la CDR.

Los agentes de unión polipeptídicos que comprenden las CDR modificadas se exploran respecto de la afinidad de unión por el antígeno original. Además, se ensaya adicionalmente el anticuerpo o polipéptido respecto de su capacidad para neutralizar la actividad de su antígeno. Por ejemplo, los anticuerpos de la invención pueden analizarse tal como se expone en los ejemplos para determinar su capacidad para interferir con la actividad biológica de la diana.

Pueden efectuarse modificaciones mediante sustituciones de aminoácidos conservativas o no conservativas descritas en mayor detalle a continuación. Las "inserciones" o "eliminaciones" se encuentran preferentemente en el intervalo de 1 a 20 aminoácidos, más preferentemente de 1 a 10 aminoácidos. La variación puede introducirse haciendo sustituciones de aminoácidos de manera sistemática en una molécula de polipéptido de anticuerpo usando técnicas de ADN recombinante y ensayando las variantes resultantes respecto de su actividad. Pueden efectuarse alteraciones del ácido nucleico en sitios que difieren en los ácidos nucleicos de diferentes especies (posiciones variables) o en regiones elevadamente conservadas (regiones constantes). Los métodos para alterar secuencias de anticuerpos y expresar composiciones de polipéptido de anticuerpo útiles en la invención se describen en más detalle a continuación.

Las inserciones de secuencia de aminoácidos incluyen fusiones amino- y/o carboxilo-terminal en el intervalo de longitud de un resto a polipéptidos que contienen cien o más restos, así como inserciones intrasecuencia de restos simples o múltiples de aminoácidos. Los ejemplos de inserciones terminales incluyen un anticuerpo con un resto de metionilo N-terminal o el anticuerpo (incluyendo un fragmento de anticuerpo) fusionado a un marcador epitópico o a un epítipo de receptor salvaje. Otras variantes insercionales de la molécula de anticuerpo incluyen la fusión a un polipéptido que aumenta la semivida en suero del anticuerpo, por ejemplo, en el extremo N-terminal o en el extremo C-terminal.

La expresión "marcado epitópicamente" se refiere al anticuerpo fusionado a un marcador epitópico. El polipéptido marcador epitópico tiene suficientes restos como para proporcionar un epítipo contra el que se puede producir un anticuerpo, aun siendo lo suficientemente corto como para no interferir con la actividad del anticuerpo. El marcador epitópico preferentemente es lo suficientemente único como para que el anticuerpo contra este no reaccione de manera cruzada sustancialmente con otros epítipos. Los polipéptidos marcadores adecuados tienen generalmente al menos 6 restos de aminoácidos y normalmente entre aproximadamente 8-50 restos de aminoácidos (preferentemente entre 9-30 restos). Los ejemplos incluyen el polipéptido marcador de hemaglutinina (HA) de la gripe y su anticuerpo 12CA5 (Field et al., *Mol. Cell. Biol.* 8: 2159-2165 (1988)); el marcador c-myc y los anticuerpos 8F9, 3C7, 6E10, G4, B7 y 9E10 para este (Evan et al., *Mol. Cell. Biol.* 5:3610-16 (1985)); y el marcador de glucoproteína D (gD) del virus *Herpes simplex* y su anticuerpo (Paborsky et al., *Protein Engineering* 3:547-53 (1990)). Otros marcadores ejemplares son una secuencia de polihistidina, generalmente de aproximadamente seis restos de histidina, que permite el aislamiento de un compuesto marcado de este modo usando quelación de níquel. Otras etiquetas y marcadores, tales como el marcador FLAG® (Eastman Kodak, Rochester, NY), bien conocidos y usados de manera rutinaria en la técnica, están abarcados por la divulgación.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "epítipo de unión a receptor salvaje" se refiere a un epítipo de la región Fc de una molécula de IgG (por ejemplo, IgG₁, IgG₂, IgG₃, o IgG₄) que es responsable de aumentar la semivida en suero *in vivo* de la molécula de IgG.

Otro tipo de variante es una variante de sustitución de aminoácidos. Estas variantes tienen al menos un resto de aminoácido en la molécula de anticuerpo que se ha eliminado y un resto diferente insertado en su lugar. Se contempla la mutagénesis sustitucional dentro de cualquiera de las regiones hipervariables o CDR o regiones marco conservadas. Las sustituciones conservativas implican reemplazar una aminoácido con otro miembro de su clase.

Las sustituciones no conservativas implican reemplazar un miembro de una de estas clases con un miembro de otra clase.

Las sustituciones conservativas de aminoácidos se efectúan basándose en la similitud en la polaridad, carga, solubilidad, hidrofobicidad, hidrofiliadad, y/o naturaleza anfipática de los restos implicados. Por ejemplo, los aminoácidos no polares (hidrófobos) incluyen alanina (Ala, A), leucina (Leu, L), isoleucina (Ile, I), valina (Val, V), prolina (Pro, P), fenilalanina (Phe, F), triptófano (Trp, W), y metionina (Met, M); los aminoácidos neutros polares incluyen glicina (Gly, G), serina (Ser, S), treonina (Thr, T), cisteína (Cys, C), tirosina (Tyr, Y), asparagina (Asn, N), y glutamina (Gln, Q); los aminoácidos con carga positiva (básicos) incluyen arginina (Arg, R), lisina (Lys, K), e histidina (His, H); y los aminoácidos con carga negativa (ácidos) incluyen ácido aspártico (Asp, y ácido glutámico (Glu, E).

También puede sustituirse cualquier resto de cisteína no implicado en el mantenimiento de la conformación adecuada del anticuerpo, generalmente con serina, para mejorar la estabilidad oxidativa de la molécula y prevenir la reticulación aberrante. Por el contrario, pueden añadirse uniones de cisteína al anticuerpo para mejorar su estabilidad (en particular cuando el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo, tal como un fragmento Fv).

Maduración por afinidad

La maduración por afinidad generalmente implica preparar y explorar variantes de anticuerpo que tienen sustituciones dentro de las CDR de un anticuerpo progenitor y seleccionar variantes que tengan propiedades biológicas mejoradas, tales como una afinidad de unión más fuerte en relación al anticuerpo progenitor. Una manera conveniente para generar dichas variantes de sustitución es la maduración por afinidad usando presentación en fagos. En resumen, se mutan varios sitios de región hipervariable (por ejemplo, 6-7 sitios) para generar todas las posibles sustituciones de aminoácidos en cada sitio. Las variantes de anticuerpo generadas de este modo se presentan de manera monovalente a partir de partículas de fago filamentoso como fusiones al producto génico III de M13 empaquetadas dentro de cada partícula. Entonces se explora la actividad biológica de las variantes presentadas en fagos (por ejemplo, la afinidad de unión). Véanse, por ejemplo, los documentos , WO 92/01047, WO 93/112366, WO 95/15388 y WO 93/19172.

Los métodos de maduración por afinidad actuales pertenecen a dos categorías de mutagénesis: estocástica y no estocástica. La PCR propensa a errores, las cepas bacterianas mutadoras (Low et al., J. Mol. Biol. 260, 359-68 (1996)), y la mutagénesis por saturación (Nishimiya et al., J. Biol. Chem. 275:12813-20 (2000); Chowdhury, P. S. Methods Mol. Biol. 178, 269-85 (2002)) son ejemplos típicos de métodos de mutagénesis estocásticos (Rajpal et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 102:8466-71 (2005)). Las técnicas no estocásticas usan a menudo mutagénesis de barrido de alanina o de sitio dirigido para generar colecciones limitadas de variantes específicas. Algunos métodos se describen en más detalle a continuación.

Maduración por afinidad mediante métodos de paneo La maduración por afinidad de anticuerpos recombinantes se lleva a cabo comúnmente a través de varias rondas de paneo de anticuerpos candidatos en presencia de cantidades decrecientes de antígeno. Reducir la cantidad de antígeno por ronda selecciona los anticuerpos con la afinidad mayor para el antígeno, produciendo de este modo anticuerpos de alta afinidad a partir de una gran cantidad de material de partida. La maduración por afinidad mediante paneo se conoce bien en la técnica y se describe, por ejemplo, en Huls et al. (Cancer Immuno Immunother. 50:163-71 (2001)). Los métodos de maduración por afinidad que usan tecnologías de presentación en fagos se describen en otras partes del presente documento y se conocen en la técnica (véase, por ejemplo, Daugherty et al., Proc Natl Acad Sci U S A. 97:2029-34 (2000)).

Mutagénesis de revisión La mutagénesis de revisión (LTM) (Rajpal et al., Proc Natl Acad Sci USA. 102:8466-71 (2005)) proporciona un método para mapear rápidamente el sitio de unión de anticuerpo. Para la LTM, nueve aminoácidos, representativos de las principales químicas de cadena lateral proporcionadas por los 20 aminoácidos naturales, se seleccionan para diseccionar las contribuciones funcionales de cadena lateral a la unión en cada posición en todas las seis CDR de un anticuerpo. La LTM genera una serie posicional de mutaciones individuales en una CDR donde cada resto de "tipo silvestre" se sustituye de manera sistemática por uno de nueve aminoácidos seleccionados. Las CDR mutadas se combinan para generar bibliotecas de fragmento variable monocatenario (scFv) combinatorias para aumentar la complejidad y el tamaño sin ser prohibitivas para la presentación cuantitativa de todas las variantes. Después de la selección positiva, se secuencian los clones con afinidad de unión más fuerte, y se mapean las mutaciones beneficiosas.

PCR propensa a errores La PCR propensa a errores implica la aleatorización de ácidos nucleicos entre diferentes rondas de selección. La aleatorización sucede a baja frecuencia debido a la frecuencia de error intrínseca de la polimerasa usada pero puede potenciarse mediante PCR propensa a errores (Zaccolo et al., J. Mol. Biol. 285:775-783 (1999)) usando una polimerasa que tiene una alta frecuencia de error intrínseca durante la transcripción (Hawkins et al., J Mol Biol. 226:889-96 (1992)). Después de los ciclos de mutación, se seleccionan los clones con una afinidad de unión más fuerte por el antígeno usando métodos rutinarios en la técnica.

Reordenamiento de ADN El reordenamiento de ácido nucleico es un método para la recombinación de homólogos *in vitro* o *in vivo* de grupos de polinucleótidos más cortos o pequeños para producir polinucleótidos variantes. El

reordenamiento de ADN se ha descrito en la Patente de Estados Unidos n.º 6.605.449, la Patente de Estados Unidos 6.489.145, en el documento WO 02/092780 y en Stemmer, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 91:10747-51 (1994). En general, el reordenamiento de ADN está compuesto de 3 etapas: fragmentación de los genes que se van a reordenar con DNasa I, hibridación al azar de los fragmentos y reensamblaje o relleno del gen fragmentado mediante PCR en presencia de ADN polimerasa (PCR sexual), y amplificación del producto reensamblado mediante PCR convencional.

El reordenamiento de ADN difiere de la PCR propensa a errores en tanto que es una reacción en cadena inversa. En la PCR propensa a errores, el número de sitios de inicio de polimerasa y el número de moléculas crece de manera exponencial. Por el contrario, en el reensamblaje o reordenamiento de ácido nucleico de polinucleótidos al azar, el número de sitios de inicio y el número (pero no el tamaño) de los polinucleótidos aleatorios se reduce con el tiempo.

En el caso de un anticuerpo, el reordenamiento de ADN permite la asociación combinatoria libre de todas las CDR1 con todas las CDR2 con todas las CDR3, por ejemplo. Se contempla que pueden reordenarse múltiples familias de secuencias en la misma reacción. Además, el reordenamiento generalmente conserva el orden relativo, de tal forma, por ejemplo, que la CDR1 no se encontrará en la posición de CDR2. Los reordenantes raros contendrán un gran número de las mejores CDR (por ejemplo, de afinidad más alta) y estos reordenantes raros pueden seleccionarse basándose en su afinidad superior.

El polinucleótido molde que puede usarse en el reordenamiento de ADN puede ser ADN o ARN. Puede ser de varias longitudes, dependiendo del tamaño del gen o polinucleótido más corto o pequeño que se vaya a recombinar o reensamblar. Preferentemente, el polinucleótido molde tiene de 50 pb a 50 kb. El polinucleótido molde a menudo debe ser bicatenario.

Se contempla que pueden añadirse polinucleótidos de ácidos nucleicos monocatenarios o bicatenarios que tienen regiones de identidad respecto del polinucleótido molde y regiones de heterología respecto del polinucleótido molde al polinucleótido molde, durante la etapa inicial de selección génica. También se contempla que pueden mezclarse dos polinucleótidos molde diferentes pero relacionados durante la etapa inicial.

Barrido de alanina Puede llevarse a cabo mutagénesis por barrido de alanina para identificar restos de región hipervariable que contribuyen de manera significativa a la unión a antígeno. Cunningham y Wells, (Science 244:1081-1085 (1989)). Se identifica un resto o grupo de restos diana (por ejemplo, restos cargados tales como arg, asp, his, lys, y glu) y se reemplazan por un aminoácido neutro o cargado negativamente (lo más preferentemente alanina o polialanina) para afectar a la interacción de los aminoácidos con el antígeno. Aquellas localizaciones de anticuerpos que demuestran sensibilidad funcional a las sustituciones se refinan introduciendo variantes adicionales o distintas en, o para, los sitios de sustitución.

Diseño asistido por ordenador Como alternativa, o además, puede ser beneficioso analizar una estructura cristalina del complejo antígeno-anticuerpo para identificar puntos de contacto entre el anticuerpo y el antígeno, o usar programas informáticos para modelar dichos puntos de contacto. Dichos restos de contacto y restos vecinos son candidatos a sustitución de acuerdo con las técnicas explicadas en el presente documento. Una vez se han generado dichas variantes, el panel de variantes se somete a exploración, tal como se describe en el presente documento, y pueden seleccionarse los anticuerpos con propiedades superiores en uno o más ensayos relevantes para desarrollo posterior.

Formulación de composiciones farmacéuticas

Para administrar agentes de unión polipeptídicos de la divulgación a seres humanos o a animales de ensayo, es preferible formular el agente de unión polipeptídico en una composición estéril que comprende uno o más vehículos farmacéuticamente aceptables estériles. La expresión "farmacéuticamente aceptable" o "farmacológicamente aceptable" se refiere a entidades y composiciones moleculares que no producen reacciones alérgicas, u otras reacciones adversas cuando se administran usando rutas bien conocidas en la técnica, como se describe más adelante. Los "vehículos farmacéuticamente aceptables" incluyen cualquiera y todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos o retardantes de la absorción y similares clínicamente útiles.

El agente de unión polipeptídico se administra por cualquier medio adecuado, incluyendo administración parenteral, subcutánea, intraperitoneal, intrapulmonar, e intranasal, y si se desea para un tratamiento local, administración intralesional. Las infusiones parenterales incluyen la administración intravenosa, intraarterial, intraperitoneal, intramuscular, intralesional o subcutánea. Preferentemente, la dosis se administra mediante inyecciones, lo más preferentemente inyecciones intravenosas o subcutáneas, dependiendo en parte de si la administración es breve o crónica. Se contemplan otros métodos de administración, incluyendo administración tópica, en particular transdérmica, transmucosa, rectal, oral o local, por ejemplo, a través de un catéter colocado próximo al sitio deseado.

Las composiciones farmacéuticas divulgadas en el presente documento que contienen un agente de unión

polipeptídico como ingrediente activo pueden contener vehículos o aditivos estériles farmacéuticamente aceptables dependiendo de la ruta de administración. Los ejemplos de dichos vehículos incluyen agua, un disolvente orgánico farmacéuticamente aceptable, colágeno, alcohol polivinílico, polivinilpirrolidona, un polímero de carboxivinilo, carboximetilcelulosa sódica, poliacrílico sódico, alginato de sodio, dextrano soluble en agua, carboximetil almidón sódico, pectina, metilcelulosa, etilcelulosa, goma xantana, goma arábica, caseína, gelatina, agar, diglicerina, glicerina, propilenglicol, polietilenglicol, vaselina, parafina, alcohol estearílico, ácido esteárico, seroalbúmina humana (HSA), manitol, sorbitol, lactosa, un tensioactivo farmacéuticamente aceptable y similares. Los aditivos usados se seleccionan entre, pero sin limitación, los anteriores o combinaciones de los mismos, según sea apropiado, dependiendo de la forma de dosificación de la presente invención. Para soluciones o emulsiones, los vehículos adecuados incluyen, por ejemplo, soluciones acuosas o alcohólicas/acuosas, emulsiones o suspensiones, incluyendo medios salinos y tamponados. Los vehículos parenterales pueden incluir solución de cloruro de sodio, solución de Ringer con dextrosa, dextrosa y cloruro de sodio, solución de Ringer lactada o aceites no volátiles. Los vehículos intravenosos pueden incluir diversos aditivos, conservantes, o fluidos, reconstituyentes de nutrientes o electrolitos. Son adecuados una diversidad de vehículos acuosos, por ejemplo, soluciones salinas tamponadas estériles, agua bacteriostática, agua, agua tamponada, suero salino al 0,4 %, glicina al 0,3 %, y similares, y pueden incluir otras proteínas para potenciar la estabilidad, tales como albúmina, lipoproteínas, globulina, etc., sometidas a leves modificaciones químicas o similares.

Las formulaciones terapéuticas del agente de unión polipeptídico se preparan para su almacenamiento mezclando el agente de unión polipeptídico que tiene el grado deseado de pureza con vehículos, excipientes o estabilizantes opcionales fisiológicamente aceptables (Remington's Pharmaceutical Sciences 16ª edición, Osol, A. Ed. (1980)), en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los vehículos, excipientes, o estabilizantes aceptables no son tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas, e incluyen tampones tales como fosfato, citrato, succinato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes incluyendo ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencil amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquil parabenos tales como metil o propil parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (de menos de aproximadamente 10 restos); proteínas, tal como albúmina sérica, gelatina, o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina, o lisina; monosacáridos, disacáridos, y otros carbohidratos incluyendo glucosa, manosa, o dextrinas; agentes quelantes, tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; complejos metálicos (por ejemplo, complejos Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG).

Los principios activos también pueden atraparse en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o mediante polimerización interfacial, por ejemplo, microcápsulas de hidroximetilcelulosa o gelatina y microcápsulas de poli-(metil-metacrilato), respectivamente, en sistemas de administración de fármaco en forma coloidal (por ejemplo, liposomas, microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Dichas técnicas se han descrito en Remington's Pharmaceutical Sciences, 16ª edición, Osol, A. Ed. (1980).

Las formulaciones que se van a usar para administración *in vivo* deben ser estériles. Esto se consigue fácilmente mediante filtración a través de membranas de filtración estériles.

Las suspensiones acuosas pueden contener al compuesto activo mezclado con excipientes adecuados para la fabricación de suspensiones acuosas. Dichos excipientes son agentes de suspensión, por ejemplo, carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, hidroxipropilmetilcelulosa, alginato de sodio, polivinilpirrolidona, goma tragacanto y goma arábica; los agentes disgregantes o humectantes pueden ser una fosfatida de origen natural, por ejemplo, lecitina, o productos de condensación de un óxido de alquileo con ácidos grasos, por ejemplo, estearato de polioxietileno, o productos de condensación de óxido de etileno con alcoholes alifáticos de cadena larga, por ejemplo, heptadecaetilenoxietanol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y hexitol, tales como monooleato de polioxietileno y sorbitol, o productos de condensación de óxido de etileno con ésteres parciales derivados de ácidos grasos y anhídridos de hexitol, por ejemplo, monooleato de polietileno y sorbitán. Las suspensiones acuosas también pueden contener uno o más conservantes, por ejemplo, p-hidroxibenzoato de etilo o de n-propilo.

Los anticuerpos divulgados en el presente documento pueden liofilizarse para su almacenamiento y reconstituirse en un vehículo adecuado antes de su uso. Se ha demostrado que esta técnica es eficaz con inmunoglobulinas convencionales. Puede emplearse cualquier técnica de liofilización y reconstitución adecuada. Los expertos en la materia apreciarán que la liofilización y la reconstitución pueden dar lugar a diversos grados de pérdida de actividad de anticuerpos y que es posible que se tengan que ajustar los niveles de uso para compensar.

Los polvos y gránulos dispersables adecuados para la preparación de suspensión acuosa añadiendo agua proporcionan al compuesto activo mezclado con un agente de dispersión o humectante, un agente de suspensión y uno o más conservantes. Los agentes dispersantes o humectantes y los agentes de suspensión se ilustran por aquellos ya mencionados anteriormente.

La concentración de agente de unión polipeptídico en estas formulaciones puede variar ampliamente, por ejemplo, desde menos de aproximadamente el 0,5 %, normalmente de o al menos aproximadamente el 1 % hasta un máximo de un 15 o un 20 % en peso y se seleccionarán principalmente basándose en volúmenes de fluido, viscosidades, etc., de acuerdo con el modo de administración particular seleccionado. Por lo tanto, una composición farmacéutica típica para inyección parenteral puede prepararse para que contenga 1 ml de agua tamponada estéril, y 50 mg de agente de unión polipeptídico. Una composición típica para infusión intravenosa podría prepararse para que contenga 250 ml de solución de Ringer estéril, y 150 mg de agente de unión polipeptídico. Los métodos reales para preparar composiciones administrables por vía parenteral se conocerán o serán evidentes para los expertos en la materia y se describen en más detalle en, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 15ª ed., Mack Publishing Company, Easton, Pa. (1980). Una dosificación eficaz de agente de unión polipeptídico se encuentra dentro del intervalo de 0,01 mg a 1000 mg por kg de peso corporal por administración.

Las composiciones farmacéuticas pueden estar en forma de una suspensión oleaginosa acuosa inyectable, dispersiones o polvos estériles para la preparación extemporánea de soluciones o dispersiones inyectables estériles. La suspensión puede formularse de acuerdo con la técnica conocida usando aquellos agentes dispersantes o humectantes adecuados y agentes de suspensión que se han mencionado anteriormente. La preparación inyectable estéril puede ser también una solución o suspensión inyectable estéril en un diluyente o disolvente no tóxico parenteralmente aceptable, por ejemplo, como una solución en 1,3-butanodiol. El transportador puede ser un disolvente o medio de dispersión que contiene, por ejemplo, agua, etanol, poliol (por ejemplo, glicerol, propilenglicol, y polietilenglicol líquido, y similares), mezclas adecuadas de los mismos, aceites vegetales, solución de Ringer y solución de cloruro de sodio isotónica. Además, aceites fijos estériles, se usan convencionalmente en forma de un disolvente o un medio de suspensión. Para este fin, puede usarse cualquier aceite suave no volátil incluyendo mono o diglicéridos sintéticos. Además, pueden ser útiles ácidos grasos, tales como ácido oleico, en la preparación de inyectables.

En todos los casos, la forma tiene que ser estéril y tiene que ser fluido hasta el punto de que sea fácilmente inyectable. Puede mantenerse la fluidez adecuada, por ejemplo, mediante el uso de un recubrimiento, tal como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula necesario en el caso de las dispersiones y mediante el uso de tensioactivos. Tiene que ser estable en las condiciones de fabricación y almacenamiento y tienen que conservarse contra la acción contaminante de los microorganismos, tales como bacterias y hongos. La prevención de la acción de microorganismos puede lograrse por medio de varios agentes antibacterianos y antifúngicos, por ejemplo, parabenos, clorobutanol, fenol, ácido sórbico, timerosal, y similares. En muchos casos, será deseable incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares o cloruro sódico. Puede lograrse la absorción prolongada de las composiciones inyectables mediante el uso en las composiciones de agentes retardantes de la absorción, por ejemplo, monoestearato de aluminio y gelatina.

Las composiciones útiles para administración pueden formularse con potenciadores de la captación o de la absorción para aumentar su eficacia. Dichos potenciadores incluyen, por ejemplo, salicilato, glicocolato/linoleato, glicolato, aprotinina, bacitracina, SDS, caprato y similares. Véase, por ejemplo, Fix (J. Pharm. Sci., 85:1282-1285 (1996)) y Oliyai y Stella (Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., 32:521-544 (1993)).

Ensayos biofísicos

Pueden estudiarse sucesos biológicos complejos mediante estrategias biofísicas moleculares que las considera como sistemas de unidades de interacción que pueden entenderse en términos de mecanismos estadísticos, termodinámica y cinética química.

En determinadas realizaciones, los ensayos de la presente divulgación pueden emplear un resto detectable. El resto detectable puede ser uno cualquiera que sea capaz de producir, de forma directa o indirecta, una señal medible, tal como una señal radiactiva, cromogénica, luminiscente, o fluorescente, que puede usarse para cuantificar la cantidad de resto o marcador detectable unido en una muestra. Los marcadores detectables conocidos en la técnica incluyen radioisótopos, tales como ^3H , ^{14}C , ^{32}P , ^{35}S , o ^{125}I , marcadores electroquimioluminiscentes (tales como catalizadores basados en rutenio (Ru) en conjunción con sustratos, etc.), marcadores luminiscentes o bioluminiscentes (por ejemplo, europio, vanadio), compuestos fluorescentes o quimioluminiscentes, tales como isotiocianato de fluoresceína, rodamina, o luciferina, enzimas (por ejemplo, una enzima, tal como fosfatasa alcalina, β -galactosidasa, o peroxidasa de rábano picante), marcadores colorimétricos, tales como oro coloidal, perlas de vidrio o plástico coloreado (por ejemplo, poliestireno, polipropileno, látex, etc.), átomos paramagnéticos o agentes magnéticos, reactivos densos a electrones, una nano o micropelícula que contiene un colorante fluorescente, nanocristales, un punto cuántico, una perla cuántica, un nanomarcador, dendrímeros con un marcador fluorescente, un microtranspondedor, una molécula donante o estructura molecular donante de electrones, o una partícula que refleje la luz, las micropartículas pueden ser nanocristales o puntos cuánticos. Los nanocristales son sustancias que absorben los fotones de la luz, y después vuelven a emitir fotones a una longitud de onda diferente (fluoróforos). Además, los marcadores fluorescentes adicionales, o anticuerpos secundarios pueden conjugarse a los nanocristales. Los nanocristales están disponibles comercialmente a través de fuentes, tales como Invitrogen y Evident Technologies (Troy, N.Y.). Otros marcadores incluyen E)-5-[2-(metoxicarbonil)etenil]citidina, que es una molécula no fluorescente que cuando se somete a radiación ultravioleta (UV) produce un producto, 3- β -D-

ribofuranosil-2,7-dioxopirido[2,3-d]pirimidina, que muestra una fuerte señal fluorescente. Los marcadores de códigos de barras se describen en la Publicación de Patente de Estados Unidos n.º US 20070037195.

Pueden emplearse una diversidad de métodos de ensayo conocidos en la técnica, tales como ensayos de unión competitivos, ensayos de tipo sándwich directos e indirectos, ensayos de inmunoprecipitación, transferencia de energía de resonancia fluorescente (FRET), electroinmunoensayos de resonancia de plasmón superficial (SPR), y técnicas derivadas de nanopartículas.

Los ensayos de unión competitiva se basan en la capacidad de un patrón marcado (por ejemplo, un antígeno o un fragmento del mismo al que se une un agente de unión polipeptídico) para competir con el antígeno en la muestra de ensayo por la unión al agente de unión polipeptídico. La cantidad de antígeno en la muestra de ensayo es inversamente proporcional a la cantidad de patrón que se une a los anticuerpos. Para facilitar la determinación de la cantidad de patrón que queda unido, los anticuerpos se hacen normalmente insolubles antes o después de la competición, de tal forma que el antígeno unido puede separarse convenientemente del antígeno no unido. En realizaciones alternativas, los ensayos de unión competitivos miden la capacidad de un agente de unión polipeptídico marcado para competir con agente de unión polipeptídico no marcado por la unión a antígeno o a un fragmento del mismo.

Los ensayos en sándwich implican normalmente el uso de dos anticuerpos, cada uno capaz de unirse a una porción inmunogénica diferente, o epítipo, de la proteína que se va a detectar y/o cuantificar. En un ensayo en sándwich, el analito en la muestra de ensayo se une normalmente por un primer agente de unión polipeptídico que se inmoviliza sobre una fase sólida, y posteriormente se une un segundo agente de unión polipeptídico al analito, formando de este modo un complejo de insoluble de tres partes. Véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos Nº 4.376.110. El segundo agente de unión polipeptídico puede estar marcado en sí con un resto detectable (ensayos en sándwich directos) o puede medirse usando un anticuerpo anti-inmunoglobulina que está marcado con un resto detectable (ensayos en sándwich indirectos). Por ejemplo, un tipo de ensayo en sándwich es un ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA), en cuyo caso, el resto detectable es una enzima. Véase, por ejemplo, Capítulo 18, *Current Protocols in Molecular Biology*, Ausubel et al., eds., John Wiley & Sons, Nueva York, NY (1995).

Otro ejemplo más de un método de ensayo implica emisiones de transferencia de energía de resonancia fluorescente (FRET). Por ejemplo, se marca un compuesto con una molécula donante de FRET y se marca su compañero de unión con una molécula aceptora de FRET, o viceversa. Cuando sucede la unión entre los compañeros de unión, las moléculas donantes de FRET yceptoras de FRET se ponen en proximidad y emiten fluorescencia a una determinada longitud de onda. Puede usarse un filtro de paso de banda estrecho para bloquear todas las longitudes de onda excepto la del marcador. Los pares de moléculas FRET están comercialmente disponibles en la técnica (por ejemplo, de Invitrogen), y pueden usarse de acuerdo con el protocolo del fabricante. Las emisiones de FRET se detectan usando técnicas de obtención de imágenes ópticas, tales como una cámara CCD.

Otro ejemplo de un método de ensayo es la transferencia de energía de resonancia de bioluminiscencia (BRET), por ejemplo, usando biosensores, tal como se describe en el documento WO/06/086883.

Otro tipo de ensayo implica el marcaje con un donante de electrones. Una molécula se marca con un donante de electrones y la molécula que interactúa se une a un contacto eléctrico, o viceversa. Cuando sucede la unión entre los compañeros de unión, el marcador dona electrones al contacto eléctrico. Véase, por ejemplo, Ghindilis, *Biochem Soc Trans.* 28:84-9, (2000) y Dai et al., *Cancer Detect Prev.* 29:233-40 (2005), que describen métodos para electroinmunoensayos. El contacto electrónico se leería entonces mediante un convertidor de A a D (análogo a digital) y se cuantificaría. Cuanto mayor sea el recuento de electrones mayor sería el número de interacciones que sucedieron.

Una realización de un marcador capaz de la detección de moléculas individuales es el uso de partículas resonantes de plasmón (PRP) como indicadores ópticos, tal como se describe en Schultz et al., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97:996-1001 (2000), incorporado en el presente documento por referencia. Los PRP son nanopartículas metálicas, por ejemplo, de 40-100 nm de diámetro, que dispersan la luz debido a una resonancia colectiva de la conducción de electrones en el metal (es decir, la resonancia de plasmón superficial). La magnitud, el pico de longitud de onda, y el ancho de banda espectral de la resonancia de plasmón asociada con una nanopartícula son dependientes del tamaño de la partícula, la forma, y la composición del material, así como el ambiente local. Al influenciar estos parámetros durante la preparación, pueden formarse PRP que tienen picos de dispersión en cualquier parte del intervalo visible del espectro. Para los PRP esféricos, tanto la longitud de onda de dispersión del pico y la eficacia de la dispersión aumentan con un radio mayor, proporcionando un medio para producir marcadores coloreados de manera diferente. Las poblaciones de esferas de plata, por ejemplo, pueden prepararse de manera reproducible para las que las longitudes de onda de dispersión de pico se encuentra dentro de unos pocos nanómetros de la longitud de onda diana, ajustando el radio final de las esferas durante la preparación. Debido a que los PRP son brillantes, aunque con tamaño nanométrico, se usan como indicadores para la detección de moléculas individuales; es decir, la presencia de un PRP unido en un campo de visión puede indicar un solo suceso de unión. Un ejemplo de un sistema detector de resonancia de plasmón superficial es el sistema de ensayo BIAcore. Véase, por ejemplo,

Malmquist, J Molec Recognition, 7:1-7 (1994).

Las interacciones moleculares también pueden detectarse usando técnicas derivadas de nanopartículas. Véase, por ejemplo, Ao et al., Anal Chem. 78:1104-6 (2006), que describe la inactivación de nanopartículas de oro, Tang et al., Biosens Bioelectron. 30 de nov de 2005, que describe superficies de nanopartículas de SiO₂/Au en la detección de anticuerpos, y Lieu et al., J Immunol Methods. 307:34-40 (2005), que describe nanopartículas de dióxido de silicio que contienen dibromofluoresceína para su uso en ensayos de fosforescencia a temperatura ambiente en sustrato sólido (SS-RTP-IA).

Un ensayo KinExA también es útil para medir la afinidad de un anticuerpo modulador por su antígeno. Se describe un ensayo KinExA ejemplar en el ejemplo 20. Por ejemplo, un ensayo KinExA mide niveles muy bajos de ligando en medio de cultivo celular. Este ensayo permite la unión de ligando a células que expresan el receptor afín para medirlo determinando el nivel de eliminación de ligando del medio de cultivo celular. A medida que el ligando queda unido a las células, disminuye la concentración de ligando en el medio de cultivo celular. Al usar una titulación de células que expresan el receptor y midiendo el porcentaje de ligando libre, se estima la afinidad de la interacción ligando-receptor usando el programa informático KinExA (Sapidyne, Boise ID). Este ensayo se usa para medir el grado de modulación de actividad de unión al ligando mostrada por diversos anticuerpos anti-receptor.

Cualquiera de las medidas anteriores de la afinidad de unión o de los parámetros de velocidad de unión pueden llevarse a cabo en ensayos donde uno o más del primer componente, el segundo componente y el agente de unión polipeptídico se encuentran en solución, o en ensayos donde uno o más del primer componente, segundo componente y agente de unión polipeptídico se unen a una fase sólida (de manera covalente o no covalente), o en ensayos donde uno o más del primer componente, segundo componente y agente de unión polipeptídico se expresan en una superficie celular. Los componentes primero y/o segundo pueden cada uno ser por sí mismos complejos de múltiples compuestos.

Administración y dosificación

En un aspecto, los métodos proporcionados en el presente documento incluyen una etapa de administrar una composición farmacéutica.

Los métodos de la divulgación se llevan a cabo usando cualquier medio médicamente aceptado para introducir un agente terapéutico directa o indirectamente en un sujeto mamífero, incluyendo, pero sin limitación, inyecciones, ingestión oral, administración intranasal, tópica, transdérmica, parenteral, spray de inhalación, vaginal o rectal. El término parenteral, tal como se usa en el presente documento incluye inyección subcutánea, intravenosa, intramuscular, e intracisternal, así como técnicas de catéter o infusión. También se contempla la administración mediante inyección intradérmica, intramamaria, intraperitoneal, intratecal, retroglobular, intrapulmonar o implante quirúrgico en un sitio particular. Los dispositivos de administración adecuados pueden incluir aquellos desarrollados para la administración de insulina (véase, por ejemplo, Owens et al., Diabetic Med. 20(11):886-898, 2003).

En una realización, la administración se lleva a cabo en el sitio de un cáncer o tejido afectado que necesita tratamiento mediante inyección directa en el sitio o mediante un mecanismo de administración sostenida o de liberación sostenida, que puede administrar la formulación de manera interna. Por ejemplo, pueden incluirse microesferas o cápsulas biodegradables u otras configuraciones poliméricas biodegradables capaces de administrar de manera sostenida una composición (por ejemplo, un polipéptido, anticuerpo o molécula pequeña soluble) en las formulaciones implantadas en el sitio.

También pueden administrarse composiciones terapéuticas al paciente en múltiples sitios. Las administraciones múltiples pueden hacerse simultáneamente o pueden administrarse durante un periodo de tiempo. En determinados casos es beneficioso proporcionar un flujo continuo de la composición terapéutica. Puede administrarse terapia adicional con un patrón periodico, por ejemplo, cada hora, días, semanalmente, cada 2 semanas, cada 3 semanas, o mensualmente.

También se divulga en el presente documento la administración de múltiples agentes, tales como una composición de anticuerpo conjuntamente con un segundo agente, tal como se describe en el presente documento.

Las cantidades de composición de anticuerpo en una dosificación dada variarán de acuerdo con el tamaño del individuo al que se está administrando la terapia así como con las características del trastorno que se esté tratando. En tratamientos ejemplares, puede ser necesario administrar aproximadamente 1 mg/día, 5 mg/día, 10 mg/día, 20 mg/día, 50 mg/día, 75 mg/día, 100 mg/día, 150 mg/día, 200 mg/día, 250 mg/día, 500 mg/día o 1000 mg/día. Estas concentraciones pueden administrarse en forma de una sola forma de dosificación o como múltiples dosis. Los estudios de respuesta a la dosis convencionales, primero en modelos animales y después en ensayos clínicos, revelan dosificaciones óptimas para patologías concretas y poblaciones de pacientes.

Terapia de combinación

En una realización, se administra un anticuerpo de la divulgación con un segundo agente útil para tratar una enfermedad o afección tal como se describe en el presente documento. Se contempla que pueden mezclarse dos o más anticuerpos para epítomos diferentes del antígeno diana de tal forma que la combinación de anticuerpos juntos proporcione una eficacia aún mejorada contra una afección o trastorno que se va a tratar en asociación con el polipéptido diana. Las composiciones que comprenden uno o más anticuerpos pueden administrarse a personas o mamíferos que padecen, o están predispuestas a padecer, una afección o trastorno que se va a tratar en asociación con el polipéptido diana.

La administración concurrente de dos agentes terapéuticos no requiere que los agentes se administren a la vez o a través de la misma ruta, en tanto que haya un solapamiento en el período de tiempo durante el cual los agentes están ejerciendo su efecto terapéutico. Se contempla la administración simultánea o secuencial, así como la administración en días o semanas diferentes.

Los segundos agentes pueden ser otros agentes terapéuticos, tales como agentes antidiabéticos, citocinas, factores de crecimiento, otros agentes antiinflamatorios, agentes anticoagulantes, agentes que disminuirán o reducirán la presión sanguínea, agentes que reducirán el colesterol, triglicéridos, LDL, VLDL, o lipoproteínas o aumentar las HDL; agentes que aumentarán o reducirán niveles de proteínas reguladoras de colesterol, fármacos o moléculas antineoplásicas. Para los pacientes con un trastorno hiperproliferativo, tal como cáncer o un tumor, también se contempla la combinación con segundas modalidades terapéuticas, tales como radioterapia, quimioterapia, terapia fotodinámica o cirugía.

Los agentes antidiabéticos ejemplares incluyen, pero sin limitación, 1) las sulfonilureas (por ejemplo, glimepirida, glisentida, sulfonilurea, AY31637); 2) las biguanidas (por ejemplo, metformina); 3) los inhibidores de alfa-glucosidasa (por ejemplo, acarbosa, miglitol); 4) las tiazolidindionas (por ejemplo, troglitazona, pioglitazona, rosiglitazona, glipizida, balaglitazona, rivoglitazona, netoglitazona, troglitazona, englitazona, AD 5075, T 174, YM 268, R 102380, NC 2100, NIP 223, NIP 221, MK 0767, ciglitazona, adaglitazona, CLX 0921, darglitazona, CP 92768, BM 152054); 5) péptidos similares a glucagón (GLP) y análogos de GLP o agonistas del receptor de GLP-1 (por ejemplo, exendina) o estabilizantes de los mismos (por ejemplo, inhibidores de DPP4, tales como sitagliptina); y 6) insulina o análogos o miméticos de la misma (por ejemplo, LANTUS®).

Se contempla que el anticuerpo de la invención y el segundo agente pueden administrarse simultáneamente, en la misma formulación. Se contempla además que los agentes se administren en una formulación separada y que se administren de manera concurrente, refiriéndose concurrente a agentes administrados con una diferencia de 30 minutos entre sí.

En otro aspecto, el segundo agente se administra antes de la administración de la composición de anticuerpo. La administración anterior se refiere a la administración del segundo agente dentro del intervalo de una semana antes del tratamiento con el anticuerpo, hasta 30 minutos antes de la administración del anticuerpo. Además se contempla que el segundo agente se administre posteriormente a la administración de la composición de anticuerpo. Se entiende que la administración posterior describe la administración desde los 30 minutos después del tratamiento de anticuerpo hasta una semana después de la administración del anticuerpo.

Además se contempla que puedan administrarse otras terapias adjuntas, cuando sea adecuado. Por ejemplo, también puede administrarse al paciente una dieta o plan de alimentación para diabéticos, terapia quirúrgica, o radioterapia en los casos adecuados.

También será evidente que puede modificarse la dosificación si se administran agentes terapéuticos tradicionales en combinación con agentes terapéuticos de la divulgación.

Métodos de uso*Indicaciones terapéuticas para agonistas/moduladores positivos de INSR*

También se divulga un método para inhibir la actividad de la diana administrando un anticuerpo específico de diana a un paciente que lo necesite. Puede usarse terapéuticamente cualquiera de los tipos de anticuerpos descritos en el presente documento. En realizaciones ejemplares, el anticuerpo específico de diana es un anticuerpo humano, quimérico o humanizado. En otra realización ejemplar, la diana es humana y el paciente es un paciente humano. Como alternativa, el paciente puede ser un mamífero que expresa una proteína diana con la que reacciona de manera cruzada el anticuerpo específico. El anticuerpo puede administrarse a un mamífero no humano que expresa una proteína diana con la que reacciona de manera cruzada el anticuerpo (es decir, un primate) para fines veterinarios o como un modelo animal de enfermedad humana. Dichos modelos animales pueden ser útiles para evaluar la eficacia terapéutica de anticuerpos específicos de diana divulgados en el presente documento.

La resistencia a la insulina describe una afección en la que las cantidades fisiológicas de insulina no son adecuadas

para producir una respuesta normal a la insulina por parte de células o tejidos. La resistencia a la insulina se asocia con una serie de patologías y afecciones y está presente en aproximadamente el 30-40 % de los individuos no diabéticos. Estas patologías y afecciones incluyen, pero sin limitación, pre-diabetes, síndrome metabólico (también citado como síndrome de resistencia a la insulina), diabetes mellitus de tipo 2, enfermedad de ovario poliquístico (PCOS) y enfermedad del hígado graso no alcohólico (NAFLD) (revisado en Woods et al, End, Metab & Immune Disorders -Drug Targets 9: 187-198, 2009).

La prediabetes es un estado de tolerancia a la glucosa anormal caracterizado bien por tolerancia impedida a la glucosa (IGT) o glucosa en ayunas impedida (IFG). Los pacientes con prediabetes son resistentes a la insulina y están en alto riesgo de progresión futura a la diabetes de tipo 2 declarada. El síndrome metabólico es una agrupación asociada de rasgos que incluyen, pero sin limitación, hiperinsulinemia, tolerancia anormal a la glucosa, obesidad, redistribución de la grasa al compartimento abdominal o superior corporal, hipertensión, dislipidemia caracterizada por altos triglicéridos, bajo colesterol de HDL, y partículas de LDL densas pequeñas. La resistencia a la insulina se ha relacionado con cada uno de los rasgos, lo que sugiere que el síndrome metabólico y la resistencia a la insulina están íntimamente relacionadas entre sí. El diagnóstico del síndrome metabólico es un factor de riesgo potente para el desarrollo futuro de la diabetes de tipo 2, así como de la aterosclerosis acelerada, dando como resultado ataques al corazón, ictus, y enfermedad vascular periférica.

La diabetes mellitus es un trastorno metabólico en seres humanos con una prevalencia de aproximadamente un uno por ciento en la población general (Foster, D. W., Harrison's Principles of Internal Medicine, cap. 114, págs. 661-678, 10ª Ed., McGraw-Hill, Nueva York). La enfermedad se manifiesta como una serie de anomalías metabólicas inducidas por hormonas que en última instancia dan lugar a complicaciones graves, a largo plazo y duraderas que implican varios sistemas de órganos, incluyendo los ojos, riñones, nervios, y vasos sanguíneos. Patológicamente, la enfermedad se caracteriza por lesiones de las membranas basales, demostrable con microscopía electrónica. La diabetes mellitus puede dividirse en dos síndromes clínicos, diabetes mellitus de tipo 1 y de tipo 2.

La diabetes mellitus de tipo 1 o insulino dependiente (IDDM), también citada como la forma de aparición juvenil, es una enfermedad crónica autoinmunitaria caracterizada por la pérdida extensa de células beta en los islotes de Langerhans pancreáticos, que producen la insulina. A medida que estas células se destruyen progresivamente, disminuye la cantidad de insulina secretada, dando lugar en última instancia a hiperglucemia (nivel anormalmente alto de glucosa en la sangre) cuando la cantidad de insulina secretada se reduce por debajo de los niveles de glucosa requeridos normalmente. Aunque se desconoce el desencadenante exacto para esta respuesta inmunitaria, los pacientes con IDDM tienen altos niveles de anticuerpos contra proteínas expresadas en las células beta pancreáticas. Sin embargo, no todos los pacientes con altos niveles de estos anticuerpos desarrollan IDDM. Los diabéticos de tipo 1 muestran característicamente insulina en plasma muy baja o no medible con glucagón elevado. Independientemente de cual sea la etiología exacta, la mayor parte de los pacientes de tipo 1 tienen anticuerpos circulantes dirigidos contra sus propias células pancreáticas, incluyendo anticuerpos para insulina, para el citoplasma de células de islote de Langerhans y para la enzima ácido glutámico descarboxilasa. Una respuesta inmunitaria dirigida directamente contra las células beta (células productoras de insulina) da lugar a diabetes de tipo 1. El tratamiento actual para los pacientes diabéticos de tipo 1 es la inyección de insulina, y también pueden incluir modificaciones en la dieta para minimizar la hiperglucemia resultante de la carencia de insulina natural, que a su vez, es el resultado de las células beta dañadas. La dieta también se modifica respecto a la administración de insulina para contrarrestar los efectos hipoglucémicos de la hormona.

La diabetes de tipo 2 (también citada como diabetes mellitus no insulino dependiente (NIDDM), (forma de aparición en la madurez, forma de aparición en el adulto) se desarrolla cuando las células musculares, grasas y hepáticas no logran responder de manera normal a la insulina. Este fallo en la respuesta (llamado resistencia a la insulina) puede deberse a números reducidos de receptores de insulina en estas células, o a una disfunción de rutas de señalización en las células, o ambas. Las células beta compensan inicialmente esta resistencia a la insulina aumentando la producción de insulina. Con el tiempo, estas células se hacen incapaces de producir suficiente insulina para mantener niveles de glucosa normales, lo que indica progresión a diabetes de tipo 2. La diabetes de tipo 2 está ocasionada por una combinación de factores genéticos y de riesgo adquiridos, incluyendo una dieta rica en grasas, ausencia de ejercicio, y envejecimiento. Más del 90 % de la población diabética padece diabetes de tipo 2 y continua aumentando su incidencia, convirtiéndose en una de las causas principales de mortalidad, morbilidad y gasto sanitario en todo el mundo (Amos et al., Diabetic Med. 14:S1-85, 1997).

La diabetes de tipo 2 es una enfermedad compleja caracterizada por defectos en el metabolismo de lípidos y glucosa. Típicamente hay perturbaciones en muchos parámetros metabólicos, incluyendo aumentos en los niveles de glucosa en plasma en ayunas, niveles de ácidos grasos libres y niveles de triglicéridos, así como una disminución en la proporción de HDL/LDL. Como se ha discutido anteriormente, se cree que una de las principales causas subyacentes de la diabetes es un aumento en la resistencia a la insulina en tejidos periféricos, principalmente músculo y grasa. Las causas de la diabetes de tipo 2 no se entienden bien. Se cree que tienen lugar tanto la resistencia de los tejidos diana a la acción de la insulina y la secreción de insulina disminuida ("fallo de las células β"). Los principales tejidos que responden a insulina para la homeostasia de la glucosa son el hígado, en el que la insulina estimula la síntesis de glucógeno e inhibe la gluconeogénesis; músculo, en el que la insulina estimula la captación de glucosa y el glucógeno estimula la captación de glucosa e inhibe la lipólisis. Por lo tanto, como

consecuencia de la afección diabética, hay niveles elevados de glucosa en la sangre, que pueden dar lugar a toxicidad celular mediada por glucosa y a la consiguiente morbilidad (nefropatía, neuropatía, retinopatía, etc.). La resistencia a la insulina está fuertemente correlacionada con el desarrollo de la diabetes de tipo 2.

5 Actualmente, hay varias estrategias farmacológicas para el tratamiento de la diabetes de tipo 2 (Scheen et al, Diabetes Care, 22(9):1568-1577, 1999; Zangeneh et al, Mayo Clin. Proc. 78: 471-479, 2003; Mohler et al, Med Res Rev 29(1): 125-195, 2009). Estas actúan a través de diferentes modos de acción: 1) las sulfonilureas (por ejemplo, glimepirida, glisentida, sulfonilurea, AY31637) esencialmente estimulan la secreción de insulina; 2) las biguanidas (por ejemplo, metformina) actúan promoviendo la utilización de la glucosa, reduciendo la producción de glucosa
10 hepática y disminuyendo la producción de glucosa intestinal; 3) los inhibidores de alfa-glucosidasa (por ejemplo, acarbosa, miglitol) frenan la digestión de hidratos de carbono y por consiguiente la absorción intestinal y reducen la hiperglucemia postprandial; 4) las tiazolidindionas (por ejemplo, troglitazona, pioglitazona, rosiglitazona, glipizida, balaglitazona, rivoglitazona, netoglitazona, troglitazona, englitazona, AD 5075, T 174, YM 268, R 102380, NC 2100, NIP 223, NIP 221, MK 0767, ciglitazona, adaglitazona, CLX 0921, darglitazona, CP 92768, BM 152054) mejoran la
15 acción de la insulina, de este modo promoviendo la utilización de la glucosa en tejidos periféricos; 5) los péptidos y agonistas similares al glucagón (por ejemplo, exendina) o estabilizadores de los mismos (por ejemplo, inhibidores de DPP4, tales como sitagliptina) potencian la secreción de insulina estimulada por glucosa; y 6) insulina o análogos de la misma (por ejemplo, LANTUS®) estimulan la utilización de glucosa por los tejidos e inhibe la producción de glucosa hepática. Las estrategias farmacológicas anteriormente mencionadas pueden utilizarse de manera individual
20 o en terapia combinada. Sin embargo, cada estrategia tiene sus limitaciones y efectos adversos. Con el tiempo, un gran porcentaje de los sujetos con diabetes de tipo 2 pierden su respuesta a estos agentes. El 63 % de los pacientes con diabetes de tipo 2 no logra alcanzar niveles globales de HbA_{1c} de < 7 %, tal como se aconseja por la American Diabetes Association, y por lo tanto tienen un riesgo elevado de desarrollar complicaciones. Además, de manera prácticamente invariable los pacientes progresan hacia los estadios de pérdida de la función pancreática.
25 Típicamente, el tratamiento de insulina se prescribe después de que la dieta, el ejercicio y las medicaciones orales hayan fracasado en el control adecuado de la glucosa en sangre. Los inconvenientes del tratamiento de insulina son la necesidad de inyectar el fármaco, el potencial de hipoglucemia, y el aumento de peso. Por consiguiente, sigue habiendo una necesidad urgente de nuevos agentes anti-diabéticos.

30 Schaffer et al. usaron presentación en fagos para identificar una serie de péptidos que se unen a dos puntos activos discretos en el INSR, que mostraron actividad agonista o antagonista cuando se unieron covalentemente para formar homodímeros o heterodímeros (Schaffer et al, Proc. Natl. Acad. Sci. EE.UU., 100(8):4435-4439, 2003).

Una estrategia farmacológica adicional para el tratamiento de la diabetes de tipo 2 es el uso de moléculas pequeñas
35 no peptídicas que pueden activar al INSR, o potenciar la activación del INSR por insulina (Moller, Nature 414: 821-827). Dichas moléculas han demostrado ser difíciles de identificar, pero dos grupos han comunicado ejemplos. L783281 (DMAQ-B1, L7) y su derivado, el compuesto 2, son miméticos de insulina identificados a partir de una exploración respecto de moléculas pequeñas que activan la tirosina cinasa del INSR (Zhang et al, Science 284: 974-977, 1999; Qureshi et al, J. Biol. Chem. 275(47): 36590-36595, 2000). TLK16998 y TLK19780 son sensibilizantes a
40 la insulina identificados por su capacidad para aumentar la autofosforilación de INSR aislado, humano expresado de manera natural (Manchem et al, Diabetes 50: 824-830, 2001; Pender et al, J. Biol. Chem. 277(46): 43565-43571, 2002). Tanto L783281 como TLK16998 potencian la acción de la insulina en células resistentes a insulina actuando en la porción intracelular de la subunidad β del INSR, potenciando la autofosforilación de la subunidad β y la posterior señalización aguas abajo (Li et al, Diabetes 50: 2323-2328, 2001). El compuesto 2 y TLK16998 han
45 demostrado reducir los niveles de glucosa en sangre en modelos de ratón de diabetes cuando se administran de manera continua a altas dosis (Strowski et al, Endocrinology 145(11):5259-5268, 2004; Manchem et al, Diabetes 50: 824-830, 2001). Sin embargo, ninguno de estos compuestos parece haber entrado en ensayos clínicos. Se espera que los agentes que se dirigen al dominio de tirosina cinasa del INSR tengan efectos secundarios debido a la activación no específica de dominios de tirosina cinasa en otras moléculas. La porción intracelular de la subunidad β
50 del INSR no es una diana adecuada para moléculas mayores, tales como anticuerpos, que son incapaces de difundirse al interior de la célula.

Los autoanticuerpos policlonales de los sueros de los pacientes con diabetes resistente a la insulina se han
55 identificado y usado como sondas para estudiar la acción de la insulina. Estos autoanticuerpos inhibieron la unión de insulina al INSR y las formas bivalentes (no las monovalentes) produjeron efectos biológicos similares a la insulina cuando se expusieron a tejidos *in vitro* (Kahn et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 75(9): 4209-4213, 1978; Heffetz y Zick, J. Biol. Chem. 261(2): 889-894, 1986).

60 Jacobs y Cuatrecasas describieron dos anticuerpos policlonales de conejo y comunicaron que estos anticuerpos, así como una serie de anticuerpos policlonales producidos por otros investigadores, fueron capaces de mediar diversos efectos similares a la insulina (Jacobs y Cuatrecasas, CIBA Found. Symp. 90: 82-90, 1982).

Kull et al describieron tres anticuerpos monoclonales de ratón, aIR-1, aIR-2 y aIR-3 y uno policlonal, A410, y su uso
65 para investigar la reactividad cruzada inmunoquímica de, e identificar las subunidades de, los receptores de insulina y somatomedina-C (IGF-1) (Kull et al, J. Biol. Chem. 258(10): 6561-6566, 1983). Herrera et al. también produjeron anticuerpos (anticuerpos policlonales anti-péptido de INSR, P4 y P5) para estudiar la relación entre los receptores de

INSR e IGF-1 humanos (Herrera et al, J. Biol. Chem. 261(6): 2489-2491, 1986).

Un modulador positivo que aumenta la velocidad de asociación o reduce la velocidad de disociación de la insulina (análogo de insulina o agonista de INSR) por el INSR podría dar como resultado un tiempo de residencia aumentado de la insulina unida a receptor (análogo de insulina o agonista de INSR), un cambio en la velocidad de internalización del INSR y/o un cambio en el grado de fosforilación de proteínas de señalización activadas o desactivadas por el INSR: Estos cambios podrían alterar significativamente la actividad tanto metabólica como mitogénica de la insulina (análogo de insulina o agonista de INSR) y el nivel y la frecuencia de la dosificación de insulina exógena (análogo de insulina o agonista de INSR).

Un anticuerpo modulador negativo que aumenta la velocidad de asociación o reduce la velocidad de disociación de la insulina (análogo de insulina o agonista de INSR) por el receptor podría dar como resultado un tiempo de residencia disminuido de la insulina unida a receptor (análogo de insulina o agonista de INSR), un cambio en la velocidad de internalización del INSR y/o un cambio en el grado de fosforilación de proteínas de señalización activadas o desactivadas por el INSR: Estos cambios podrían alterar significativamente la actividad tanto metabólica como mitogénica de la insulina (análogo de insulina o agonista de INSR) y el nivel y la frecuencia de la dosificación de insulina exógena (análogo de insulina o agonista de INSR).

Se contempla que los pacientes diabéticos que reciben un anticuerpo modulador positivo de la divulgación podrían tener una mejora en los niveles de glucosa en sangre, la prueba de tolerancia a la glucosa, y otras medidas de sensibilidad a la insulina en comparación con pacientes que no reciben tratamiento. Por ejemplo, se espera que la administración de un anticuerpo modulador positivo reduzca los niveles de glucosa elevados en sangre hacia niveles de glucosa normales, que se encuentran entre aproximadamente 70 mg/dl a 125 mg/dl para niveles de glucosa en sangre en ayunas de acuerdo con la American Diabetes Association. En una realización, la administración de un anticuerpo de la divulgación reduce los niveles de glucosa en sangre en aproximadamente un 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 % o más en comparación con un paciente que no recibe tratamiento de anticuerpos.

De acuerdo con los criterios de la Organización Mundial de la Salud y de la American Diabetes Association, la tolerancia normal a la glucosa se define como niveles de glucosa por debajo de 140 mg por dl medidos dos horas después de ingerir 75 g de glucosa por vía oral. La tolerancia impedida a la glucosa se define como niveles de glucosa a las dos horas de 140 a 199 mg por dl (7,8 a 11,0 mmol) después de ingerir 75 g de glucosa por vía oral. Se dice que un paciente tiene tolerancia impedida a la glucosa cuando el nivel de glucosa está elevado (en comparación con un paciente sano normal) después de dos horas, pero menos elevado de lo que podría considerarse para un diagnóstico de diabetes mellitus de tipo 2. Un paciente con tolerancia impedida a la glucosa todavía puede tener una glucosa en ayunas que sea bien normal o solo levemente elevada. En una realización, la administración de un anticuerpo de la divulgación reduce los niveles de glucosa a las dos horas (después de la dosis de glucosa por vía oral de 75 g) en aproximadamente un 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 % o más en comparación con un paciente que no recibe tratamiento de anticuerpos.

La ADA también recomienda un nivel diana de hemoglobina A1c menor del 7 % en adultos. Para niños, la ADA recomienda niveles diana mayores de A1c. En niños menores de 6 años de edad, el nivel recomendado es del 7,5 % al 8,5 %. En niños de 6 a 12 semanas de edad, el nivel recomendado es menor del 8 %, el nivel recomendado para adolescentes de 13 a 19 años de edad es menor del 7,5 %. La A1c es una medida de cómo de bien han permanecido los niveles de azúcar en sangre en un intervalo diana durante el periodo de 2 a 3 meses. (American Diabetes Association, Diabetes Care, 28(1): 186-212, 2005). Se contempla que la administración de un anticuerpo divulgado en el presente documento para tratar la diabetes reduce los niveles de A1c hacia aquellos observados en un individuo no diabético. En una realización, la administración de un anticuerpo de la invención reduce los niveles de A1c en un paciente mediante una medida absoluta del porcentaje de HbA1c de al menos el 0,5 %, 0,7 %, 1,0 % o 1,5 %.

Las células beta en los islotes de Langerhans pancreáticos producen y liberan insulina, una hormona que controla el nivel de glucosa en la sangre. Hay un nivel basal de insulina mantenido por el páncreas, pero puede responder rápidamente a picos en la glucosa en sangre liberando insulina almacenada a la vez que se produce más de manera simultánea. El tiempo de respuesta es bastante rápido. En la diabetes de tipo 1, la pérdida progresiva y extensa de células beta da como resultado niveles reducidos de insulina secretada, dando lugar en última instancia a hiperglucemia (nivel anormalmente alto de glucosa en la sangre). En la diabetes de tipo 2, las células beta compensan inicialmente la resistencia a la insulina en un sujeto aumentando la producción de insulina, pero, con el tiempo, las células se hacen incapaces de producir suficiente insulina para mantener niveles de glucosa normales. Se cree que tienen lugar tanto la resistencia de los tejidos diana a la acción de la insulina y la secreción de insulina disminuida, en parte debido al fallo de las células beta. La administración de anticuerpos o polipéptidos descritos en el presente documento que mejoran la captación de glucosa y otros síntomas de la diabetes también son útiles para mejorar la función de las células beta en un sujeto que lo necesite. Dicha mejora incluye, pero sin limitación, conservación de la viabilidad de células beta o reducción de la renovación de células beta, aumento de la proliferación de células beta, o secreción de insulina aumentada. Los métodos adicionales y los resultados de la mejora de la función de células beta se divulgan en la solicitud internacional de cesión común n.º WO 2010/028273.

En determinadas realizaciones, el tratamiento con un anticuerpo modulador positivo o un anticuerpo agonista parcial da como resultado una mejora de uno, dos, tres o más síntomas de la diabetes o la resistencia a la insulina seleccionados entre el grupo que consiste triglicéridos en plasma elevados, colesterol no esterificado en plasma elevado, colesterol total en plasma elevado, insulina en plasma elevada (indicativa de resistencia a la insulina), HOMA-IR elevado, alta proporción de colesterol no de HDL/de HDL (o alta relación de colesterol total/colesterol de HDL), función de células beta mejorada, y niveles de leptina en plasma elevados (indicativos de resistencia a leptina). En los casos donde los niveles elevados son indicativos de diabetes, la resistencia a la insulina o el riesgo aumentado de complicaciones cardiovasculares, una "mejora" se manifiesta como un nivel reducido, y vice versa. La "mejora", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una normalización de un nivel hacia el nivel observado en sujetos sanos.

Aunque los niveles "normales" determinados durante las pruebas varían dependiendo del laboratorio, y cada laboratorio tiene su propio intervalo normal, por lo general, los niveles de triglicéridos normales son menores de 150 mg/dl en la diabetes (límite máximo de lo normal 150 - 199 mg/dl); Los niveles normales de colesterol son menores de 200 mg/dl, una relación de colesterol no de HDL/HDL normal o diana es aproximadamente < 3,25 (basándose en < 130 mg/dl diana de no de HDL y > 41 ng/dl diana de HDL), un intervalo normal o diana para la insulina en ayunas es de aproximadamente 5-20 microU/m, y un intervalo normal o diana para leptina (normalmente asociado también con el índice de masa corporal (IMC) o hiperinsulinemia) es de entre 3-25 ng/ml, por ejemplo, parece que 3 ng/ml es necesario para la función metabólica normal y 20-25 ng/ml parece estar asociado con enfermedad. En algunas realizaciones, el tratamiento normaliza uno cualquiera o más de los síntomas anteriores en al menos un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 %, 50 % o más.

El síndrome del ovario poliquístico (PCOS) es el trastorno endocrino ginecológico más común y está presente en aproximadamente el 5-10 % de las mujeres en edad reproductiva. Las presentaciones clínicas incluyen trastornos menstruales, obesidad, infertilidad e hirsutismo. La resistencia a la insulina en el PCOS es el resultado de un defecto en la señalización después de la unión de insulina. La hiperfosforilación de la serina de INSR y del sustrato de receptor de insulina (IRS)-1 por una cinasa no identificada contribuye a este defecto. Se observó que la señalización mitogénica está potenciada en el músculo esquelético de mujeres con PCOS (Corbould et al, Diabetes 55: 751-59, 2006). Los agonistas y/o moduladores positivos de la unión de insulina a INSR pueden por lo tanto ser útiles para tratar y/o reducir la probabilidad de la aparición de trastornos y síntomas relacionados con el PCOS. Los agonistas y/o moduladores positivos de la unión de insulina a INSR que no aumentan la relación de señalización mitogénica a metabólica pueden ser particularmente útiles para tratar el PCOS.

La esteatohepatitis no alcohólica (NASH) forma parte de un espectro de patologías (conocido como NAFLD) que varían desde simple esteatosis (infiltración grasa) hasta NASH, hasta cirrosis y carcinoma hepatocelular (Farrel y Larter, Hepatol. 43, S99-112, 2006). La resistencia a la insulina se asocia con la acumulación de grasa en el hígado y este órgano se reconoce ahora como una diana principal de lesión en pacientes con resistencia a la insulina. Se estima que aproximadamente el 20 % de todos los adultos tienen NAFLD, y el 2-3 % de los adultos tienen NASH. Hasta una tercera parte de los pacientes con NASH desarrollarán cirrosis durante un seguimiento más prolongado. La enfermedad hepática es una complicación significativa de la diabetes de tipo 2.

Los individuos con obesidad y dislipidemia muestran una peor sensibilidad a la insulina de la encontrada en la población media. La obesidad es una enfermedad crónica que es altamente prevalente y se asocia no solo con un estigma social, sino también con un tiempo de vida reducido y numerosos problemas médicos, incluyendo un desarrollo psicológico adverso, trastornos dermatológicos tales como infecciones, venas varicosas, intolerancia al ejercicio, diabetes mellitus, resistencia a la insulina, hipertensión, hipercolesterolemia, y enfermedad coronaria (Rissanen et al., British Medical Journal, 301: 835-837, 1990). La obesidad está altamente correlacionada con la resistencia a la insulina y la diabetes en animales experimentales y en seres humanos. De hecho, la obesidad y la resistencia a la insulina, estando la última acompañada generalmente por hiperinsulinemia o hiperglucemia, o ambas, son características de la diabetes de tipo 2. Además, la diabetes de tipo 2 se asocia con el doble al cuádruple de riesgo de enfermedad de la arteria coronaria. A pesar de las décadas de investigación en estos graves problemas de salud, se desconoce la etiología de la obesidad y la resistencia a la insulina. En el presente documento se divulga que los anticuerpos moduladores positivos y los anticuerpos agonistas parciales pueden reducir o frenar el aumento de peso, es decir, normalizar el aumento de peso, observado en animales diabéticos. Se contempla que los anticuerpos tienen el mismo efecto en el aumento de peso en pacientes obesos. También se ha demostrado que la administración de anticuerpos moduladores positivos pueden frenar o reducir la pérdida de peso, es decir, normalizar la pérdida de peso, en animales diabéticos cuya población de células beta está eliminada, lo que a menudo da como resultado una pérdida de peso significativa y debilitamiento.

En algunas realizaciones se contempla que la administración de anticuerpos moduladores positivos o anticuerpos agonistas parciales descritos en el presente documento pueden reducir o frenar el aumento de peso en un sujeto en al menos un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o 50 % en comparación con un sujeto no tratado.

En una realización alternativa, se contempla que la administración de anticuerpos moduladores positivos o anticuerpos agonistas parciales descritos en el presente documento pueden reducir o frenar la pérdida de peso en

un individuo, tal como un paciente diabético o un individuo que tenga eliminación al menos parcial de células beta, en al menos un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o 50 % en comparación con un sujeto no tratado.

- 5 En algunas realizaciones, se contempla que la administración de anticuerpos modulares positivos o anticuerpos agonistas parciales descritos en el presente documento puede promover o inducir la pérdida de peso en relación a los sujetos no tratados, por ejemplo, en al menos un 5 %, 10 %, 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 %, 40 %, 45 % o 50 % en comparación con un sujeto no tratado.

- 10 Los inhibidores de proteasas usados para el tratamiento de pacientes con VIH se asocia con el desarrollo de un grupo de trastornos metabólicos, incluyendo resistencia a la insulina (Graham, JAIDS 25: S4-S11, 2000). La resistencia a la insulina inducida por inhibidores de proteasas del VIH puede dar lugar a hiperglucemia que puede progresar a diabetes y en última instancia a cetoacidosis potencialmente letal. (Carr et al, Lancet 351:1881-1883, 1998). Para algunos pacientes, estos efectos secundarios metabólicos limitan en gran medida el uso de estos fármacos de soporte vital. Murata et al (J. Biol. Chem. 275(27): 20251-54, 2000) comunicaron que al menos tres de
15 los fármacos inhibidores de la proteasa del VIH comercializados también inhiben al transportador de glucosa de la localización a la membrana plasmática de 3T3 L1 en adipocitos, con la consecuente inhibición de la captación de glucosa por estas células. Esta inhibición del transporte de glucosa celular al interior de las células por estos inhibidores de la proteasa del VIH es coherente con la elevación de la glucosa y los lípidos observada en clínica para
20 algunos pacientes que se están tratando con estos fármacos inhibidores de proteasas. Por lo tanto, los agonistas y/o moduladores positivos de la unión de insulina al INSR pueden ser útiles para tratar los efectos metabólicos de los inhibidores de proteasas del VIH.

- 25 La resistencia a la insulina es también una de las características patológicas en pacientes con infección por virus de la hepatitis C (VHC) y desempeña un papel crucial en el desarrollo de diversas complicaciones y sucesos asociados con la infección por VHC (Kawaguchi y Sata, World J. Gastroenterol. 16: 1943-52, 2010). Por lo tanto, los agonistas y/o moduladores positivos de la unión de insulina a INSR pueden ser útiles para tratar complicaciones y sucesos asociados con la infección por VHC.

- 30 La señalización de INSR también puede desempeñar un papel en otras enfermedades. Por ejemplo, se ha especulado con que la señalización de INSR/IGF-1R puede desempeñar un papel en el metabolismo del beta-amiloide (Freude et al, Curr. Alzheimer Res. 6(3): 213-23, 2009). Se ha postulado que la activación de IR es un elemento esencial de la neuroprotección del fotorreceptor (Rajala et al, J. Biol. Chem. 283(28): 19781-92, 2008). También se ha sugerido que la señalización de insulina promueve la formación ósea (Rosen y Motyl, Cell 142: 198-200). Se ha comunicado que el tratamiento con sensibilizantes de insulina mejora la función pulmonar en pacientes tanto con enfermedad pulmonar obstructiva crónica como con diabetes mellitus (Kim et al, Int. J. Tuberc. Lung Dis. 14(3): 362-67, 2010).

- 40 Se han descrito unos pocos pacientes con mutaciones homocigóticas en el gen de INSR, lo que causa el síndrome de Donohue o Leprecaunismo. Este trastorno autosómico recesivo da como resultado un receptor de insulina totalmente no funcional. Estos pacientes tienen orejas en posición baja a menudo protuberantes, orificios nasales agrandados, labios engrosados, y un retraso grave del crecimiento. En la mayor parte de casos, las expectativas para estos pacientes son extremadamente malas, teniendo lugar su muerte durante el primer año de vida. Otras mutaciones en el gen de INSR provocan el síndrome de Rabson-Mendenhall, menos grave, en el que los pacientes
45 tienen dientes característicamente anormales, gíngivas (encías) hipertróficas y agrandamiento de la glándula pineal. Ambas enfermedades se presentan con fluctuaciones en los niveles de glucosa: después de una comida, la glucosa es muy alta inicialmente, y después baja rápidamente a niveles anormalmente bajos (Longo et al, Hum. Mol. Genet. 11(12): 1465-75, 2002).

50 *Indicaciones terapéuticas para antagonistas/moduladores negativos de INSR*

- El INSR también se ha implicado con el cáncer. Varios estudios epidemiológicos han demostrado que los estados de resistencia a la insulina, caracterizados por hiperinsulinemia, están asociados con un riesgo aumentado para una serie de neoplasias, incluyendo carcinomas de mama, próstata, colon y riñón. El INSR, en particular la forma INSR-A, se sobreexpresa en diversas neoplasias humanas. INSR forma receptores híbridos con IGF-IR, que también se
55 sobreexpresa comúnmente en el cáncer. Los receptores híbridos que contienen hemidímeros de INSR-A tienen una amplia especificidad de unión ya que se unen a IF-1 y también a IGF-11 e insulina. Al unirse a receptores híbridos, la insulina puede estimular rutas de señalización específicas de IGF-IR. Los antagonistas y/o moduladores negativos de la unión de insulina a INSR y/o a receptores híbridos INSR/IGF-1R puede por lo tanto ser útil como nuevas
60 terapias anticáncer (Belfiore Current Pharm. Design 13 (7): 671-686, 2007). Se ha comunicado que INSR es esencial para la tumorigénesis inducida por virus del sarcoma de Kaposi (Rose et al, Onogene 26: 1995-2005, 2007).

- La hiperinsulinemia es una afección definida por niveles anormalmente altos de insulina en la sangre. Las causas de hiperinsulinemia incluyen insulinoma y resistencia a la insulina, que pueden estar provocadas por hiperinsulinemia congénita u otras afecciones, tales como la ausencia de actividad, obesidad, síndrome del ovario poliquístico o sobredosis de insulina. Un insulinoma es un tumor del páncreas que produce cantidades excesivas de insulina. Los
65

altos niveles de insulina provocan hipoglucemia, o baja glucosa (azúcar) en sangre. La hiperinsulinemia es la causa más común de hipoglucemia neonatal después de las primeras horas de vida. El tratamiento de dicha afección puede a menudo ser necesario para prevenir la aparición de crisis y secuelas neurológicas.

- 5 La sobredosis de insulina puede estar causada, por ejemplo por: administración de demasiada insulina; por la administración de la cantidad correcta pero del tipo erróneo, tal como insulina de acción rápida en lugar de insulina de acción lenta; mediante la administración de insulina sin haber comido; o mediante sobreadministración de insulina intencionada.
- 10 En general, la hipoglucemia puede ser leve y da lugar a síntomas tales como ansiedad y hambre, pero los pacientes también tienen riesgos de hipoglucemia grave, que puede provocar crisis, coma, e incluso la muerte. Los síntomas típicos asociados con la hipoglucemia acerca de los que se quejan los pacientes incluyen cansancio, debilidad, temblores y hambre. Muchos pacientes tienen que comer frecuentemente para prevenir los síntomas del azúcar bajo en sangre. Algunos pacientes pueden desarrollar síntomas psiquiátricos debidos al azúcar bajo en sangre.
- 15 Actualmente, los pacientes con insulinomas u otras formas graves de hiperinsulinemia se tratan mediante cirugía, tal como una pancreatotomía parcial o mediante la administración de fármacos, tales como diazóxido o somatostatina que en algunos casos reduce la producción de insulina. En algunos casos, debe infundirse glucosa de manera continua. Aunque se han descrito antagonistas peptídicos de INSR (Schaffer et al, BBRC 376: 380-383, 2008), no hay un tratamiento existente que reduzca los efectos de la insulina circulante. Los antagonistas y/o moduladores negativos de la unión de insulina a INSR pueden ser útiles para estabilizar a pacientes con insulinomas antes de la cirugía o como parte del armamento terapéutico. Los antagonistas y/o moduladores negativos también son útiles para tratar el sarcoma de Kaposi.
- 20
- 25 Adicionalmente, un número significativo de pacientes (25.000-100.000) en los Estados Unidos que se someten a diálisis presentan hipoglucemia debido a la insuficiencia renal (enfermedad de riñón crónica, enfermedad renal crónica, insuficiencia de riñón crónica, fallo renal crónico, enfermedad de riñón crónica establecida) y puede beneficiarse del tratamiento con un antagonista o modulador negativo de INSR descrito en el presente documento.
- 30 Los antagonistas y/o moduladores negativos de la unión de insulina a INSR pueden ser útiles para tratar y/o reducir la probabilidad de la aparición de trastornos y síntomas relacionados con la hiperinsulinemia en un sujeto, tales como reducir la ansiedad, hambre anormal, fatiga anormal, sobrecalentamiento, síntomas psiquiátricos asociados con bajos niveles de azúcar en sangre, y/o hipoglucemia (incluyendo crisis relacionada con la hipoglucemia, coma, y la muerte). Los antagonistas y/o moduladores negativos de la unión de insulina a INSR puede por lo tanto usarse para tratar varios tipos de afecciones hiperinsulinémicas persistentes, tales como nesidioblastosis (enfermedad difusa KATP-HI, enfermedad focal KATP-HI, o "PHHI"), El GDH-HI (síndrome de hiperinsulinismo/hiperamonemia (HI/HA), hipoglucemia sensible a leucina, o hipoglucemia sensible a diazóxido), síndrome de desregulación de células de islote, hipoglucemia idiopática de la infancia, hipoglucemia hiperinsulinémica persistente de la infancia (PHHI), hiperinsulinismo congénito, insulinoma, sobredosis de insulina, hipoglucemia debido a insuficiencia renal
- 35
- 40 (aguda o crónica), y enfermedad renal crónica, por ejemplo, de tipo III, IV o V.

Indicaciones diagnósticas para agonistas/moduladores positivos de INSR

- 45 Se han usado anticuerpos específicos para el receptor de insulina como herramientas para diagnosticar la diabetes. La Patente de Estados Unidos 7.732.154 describe anticuerpos policlonales para la subunidad A del receptor de insulina (IR-A) como diagnóstico para la diabetes, e informes de que se detectaron niveles elevados de IR-A libre en los sueros de pacientes con diabetes y cáncer. Los anticuerpos para INSR divulgados en el presente documento son útiles para medir los niveles de receptor de insulina, por ejemplo, receptor A de insulina soluble, o los niveles de insulina en una muestra de un paciente para determinar si los niveles de INSR son indicativos de diabetes o resistencia a la insulina en el paciente. Un sujeto con niveles alterados de insulina o de receptor de insulina en comparación con niveles normales aceptables de estos factores en un individuo por lo demás sano puede tener o estar en riesgo de diabetes o resistencia a la insulina. Los anticuerpos para INSR divulgados en el presente documento también son útiles para medir los niveles de receptor de insulina, por ejemplo, receptor A de insulina soluble, o los niveles de insulina en una muestra de un paciente para determinar si los niveles de INSR son
- 50
- 55 indicativos de cáncer en el paciente. Un sujeto con niveles alterados de insulina o de receptor de insulina en comparación con niveles normales aceptables de estos factores en un individuo por lo demás sano puede tener o estar en riesgo de cáncer.
- 60 También se divulga un método para diagnosticar la resistencia a la insulina o la sensibilidad a la insulina usando cualquiera de los anticuerpos tal como se describen en el presente documento. En una realización, el método comprende medir los niveles de insulina o receptor de insulina, por ejemplo, receptor A de insulina soluble, en una muestra de un sujeto usando un anticuerpo descrito en el presente documento, en el que un nivel alterado de insulina o de receptor de insulina indica que el sujeto tiene o está en riesgo de diabetes, resistencia a la insulina, sensibilidad a la insulina o cáncer, y opcionalmente, administrar un agente terapéutico a dicho sujeto que tiene o está en riesgo de diabetes, resistencia a la insulina, sensibilidad a la insulina o cáncer. En determinadas realizaciones, la muestra es una muestra biológica. En algunas realizaciones, la muestra biológica se selecciona
- 65

entre el grupo que consiste en sangre, suero, plasma, orina, secreciones papilares, fluido cerebroespinal y biopsia tumoral. Los métodos para medir el receptor de insulina en una muestra incluyen, pero sin limitación, inmunoensayos, ensayos de inhibición competitivos, ensayos de inmunoprecipitación, y otros ensayos, tal como se describen en el presente documento.

5

Ensayos útiles para medir los efectos de la administración de modulador

Los efectos de la administración de anticuerpos moduladores positivos o negativos a sujetos se miden *in vivo* e *in vitro*. En una realización, se contempla que los anticuerpos que modulan positivamente la actividad de insulina/receptor de insulina reduce los niveles *in vivo* de HbA1c, colesterol, LDL, triglicéridos, o ácidos grasos no esterificados, y HDL en un sujeto. Estos factores se miden usando técnicas comunes para los expertos en la materia.

10

Los sujetos que reciben un anticuerpo modulador positivo también pueden mostrar un peso reducido o una reducción en el aumento de peso, una frecuencia y/o número de sucesos hipoglucémicos o hiperglucémicos disminuida, y mejora de: proporción de HDL/LDL, secreción de insulina, control glucémico (medido mediante prueba de tolerancia a la glucosa (GTT)), sensibilidad a la insulina (medida mediante prueba de tolerancia a la insulina (ITT)), función de células beta (medida mediante, por ejemplo, masa celular, secreción de insulina, niveles de péptido C), inactividad de células beta, dislipidemia.

15

La resistencia a la insulina mejorada se mide mediante expresión génica normalizada de cualquiera de los siguientes en el hígado, tejido adiposo y/o músculo: Pck1 (PEPCK), G6pc (G6Pase), Srebf1 (SREBP-1), Gck (GK), Ppargc1a (PGC-1), Abcal (ABC- 1), Acaca (acetil-CoA carboxilasa), IL1b (IL-1beta), IL6 (IL-6), Tnf (TNF-alfa), Ccl2 (MCP-1), Slc2a4 (GLUT4), Il-1rn (IL-1ra), CD68, SAA1, SAA2, FAS (sintasa de ácidos grasos), Emrl (F4/80), Irs1, Irs2. Los anteriores se miden mediante técnicas bien conocidas en la materia.

20

25

También son útiles los ensayos *in vitro* para medir los efectos de la administración de un modulador de la actividad de insulina/receptor de insulina. Se espera que los anticuerpos moduladores positivos den como resultado una traslocación aumentada de GLUT4 a la superficie celular. Los métodos para medir la traslocación de GLUT4 desde una localización intracelular a la membrana plasmática se proporcionan, por ejemplo, en el documento US 6.632.924, el documento US 2007/0141635, el documento US 2003/0104490 y Liu et al, Biochem. J. 418(2), 413-20 (2009). Los efectos de los moduladores positivos también pueden evaluarse analizando la captación de glucosa mejorada por las células del hígado, adiposas y/o musculares, la eliminación potenciada de la glucosa de medio de cultivo de células del hígado, adiposas y/o musculares, y medir la relación de señalización de INSR de metabólica a mitogénica aumentada o sin cambios, activación de pAKT, y activación de pIRS-1. También es medible la pendiente de Hill relativa de la interacción insulina-INSR. Algunas curvas de respuesta a la dosis, sin embargo, son más pronunciadas o menos pronunciadas que la curva patrón. La inclinación se cuantifica mediante la pendiente de Hill, también llamado factor de pendiente. Una curva de respuesta a la dosis con una pendiente estándar tiene una pendiente de Hill de 1,0. Una curva más pronunciada tiene un factor de pendiente mayor y una curva menos pronunciada tiene un factor de pendiente menor. Los ensayos ejemplares para analizar estos factores se describen en los ejemplos.

30

35

40

Uso de anticuerpos de INSR como agentes de administración de fármacos

Un anticuerpo para INSR, 83-14, se ha humanizado con el fin de crear un "caballo de Troya molecular" para administrar terapias de proteínas y génicas no virales a través de la barrera hematoencefálica. La unión de 83-14 dirige la rápida internalización del INSR. De este modo, pueden ser útiles anticuerpos adicionales con esta propiedad, o propiedades mejoradas, para la administración de fármacos al cerebro y al sistema nervioso central (Boado et al, Biotech and BioEng. 96(2): 381-391; el documento WO04/050016).

45

50

Kits

También se divulgan kits que comprenden uno o más compuestos o composiciones empaquetadas de tal modo que facilita su uso para poner en práctica los métodos divulgados en el presente documento. En una realización, dicho kit incluye un compuesto o composición descrita en el presente documento (por ejemplo, una composición que comprende un anticuerpo específico para receptor de insulina o para el complejo insulina/receptor de insulina solo o en combinación con un segundo agente), empaquetado en un contenedor, tal como un bote o vaso sellado, con una etiqueta colocada en el contenedor o incluida en el paquete que describe el uso del compuesto o composición para poner en práctica el método. Preferentemente, el compuesto o composición se empaqueta en una forma de dosis unitaria. El kit puede incluir además un dispositivo adecuado para administrar la composición de acuerdo con una ruta específica de administración o para poner en práctica un ensayo de exploración. Preferentemente, el kit contiene una etiqueta que describe el uso de la composición de anticuerpo.

55

60

Los siguientes ejemplos están previstos para ser ilustrativos en lugar de limitantes.

65

Ejemplos

ejemplo 1

Aislamiento de anticuerpos anti-INSR a partir de bibliotecas de presentación en fagos de anticuerpos**5 (1) Paneo y rescate de fagos***A. Bibliotecas de presentación en fagos de anticuerpos nativos*

10 El receptor de insulina humano (hINSR) (R&D Systems, MN) se biotiniló con sulfo-NHS-LC-biotina (Pierce, Rockford, IL) usando el protocolo del fabricante y un exceso molar de 16 veces del reactivo de biotina. La biotinilación de hINSR se confirmó mediante resonancia de plasmón superficial (SPR).

15 Para la primera ronda de paneo de fagos, se bloquearon $1,6 \times 10^{11}$ ufc de partículas de fago a partir de una biblioteca de presentación en fagos de scFv (BioInvent, Lund, Suecia) durante 1 h a temperatura ambiente (TA) en 1 ml de leche/PBS al 5 % (Teknova, Hollister, CA) con rotación suave. Los fagos bloqueados se seleccionaron dos veces durante 30 minutos contra perlas magnéticas recubiertas con estreptavidina Dyna-Beads® M-280 (Invitrogen Dynal AS, Oslo, Noruega). Para formar el complejo biotina-hINSR-hINS, se preincubaron 100 pmol de hINSR biotinilado con insulina humana (hINS) en exceso (2.100 pmol) (Sigma, MO) disuelta en leche/PBS al 5 %, durante 1 h a TA con rotación suave. Para la segunda ronda de paneo, se usaron 50 pmol de biotina-hINSR con 20 1050 pmol de hINS. Para la ronda final de paneo, se incubaron 25 pmol de biotina-hINSR con 525 pmol de hINS.

25 La solución de biotina-hINSR/hINS se incubó con Dynabeads® M-280 magnéticas recubiertas con estreptavidina bloqueadas (Invitrogen Dynal AS, Oslo, Noruega) durante 30 minutos con rotación suave para inmovilizar el complejo biotina-hINSR-hINS. Los fagos seleccionados se incubaron con las perlas de biotina-hINSR-hINS estreptavidina durante 2 h a TA. Para saturar el hINSR con hINS, se añadió hINS adicional (2.100 pmol) a la solución. Se lavaron las perlas. Para la primera ronda de paneo, las perlas se lavaron rápidamente (es decir, se extrajeron las perlas de la solución usando un imán y se resuspendieron en 1 ml de tampón de lavado) tres veces con PBS-TWEEN al 0,1 %, seguido de tres veces con PBS. Para la segunda ronda de paneo, las perlas se lavaron rápidamente cinco veces con PBS-TWEEN al 0,1 % seguido de un lavado de 5 minutos (en 1 ml de tampón de lavado a temperatura ambiente con rotación suave) con PBS-TWEEN al 0,1 % y después cinco veces con PBS 30 seguido de un lavado de 5 minutos con PBS. Para la tercera ronda de paneo, las perlas se lavaron rápidamente cuatro veces con PBS-TWEEN al 0,1 %, seguido de dos lavados durante cinco minutos con PBS-TWEEN al 0,1 % y después cuatro lavados rápidos con PBS, seguido de dos lavados de 5 minutos con PBS.

35 Los fagos unidos a hINSR-hINS se eluyeron con trietilamina 100 mM (TEA) (incubación de 30 min a TA) que después se neutralizó con Tris-HCl 1 M (pH 7,4). Los fagos eluidos se usaron para infectar células bacterianas TG1 (Stratagene, CA) cuando alcanzaron una DO_{600} de ~0,5. Después de la infección durante 30 min a 37 °C sin agitación, y durante 30 min a 37 °C con agitación a 90 rpm, se sedimentaron las células y se resuspendieron en medio 2YT suplementado con ampicilina 100 µg/ml y glucosa al 2 %. Las células resuspendidas se sembraron en 40 placas de agar 2YT con carbenicilina 100 µg/ml y glucosa al 2 % y se incubaron durante toda la noche a 30 °C. Entonces se rescataron los fagos con fago auxiliar VCSM 13 (New England Biolabs, MA) a una multiplicidad de infección (MDI) ~ 10. Después de la infección con fago auxiliar a una DO_{600} de 0,6 a 37 °C durante 30 min sin rotación e incubación de 30 min a 37 °C a 150 rpm, se resuspendieron los sedimentos celulares en medio 2YT suplementado con ampicilina 100 µg/ml y kanamicina 50 µg/ml y se dejaron crecer durante toda la noche a 30 °C. 45 Los fagos en el sobrenadante se recuperaron después de una centrifugación vigorosa y se usaron para la ronda siguiente de paneo. Para controlar el enriquecimiento resultante de las selecciones de fagos, se tituló la cantidad de fago de entrada y salida durante las tres rondas de paneo.

Escisión del gen III y generación de extractos periplásmicos bacterianos

50 Antes de explorar los clones de scFv de salida del paneo de fagos respecto de la unión al complejo hINSR-hINS, se escindió en primer lugar el gen III de los vectores de fagémido para permitir la producción de scFv seleccionados. Para hacer esto, un plásmido midi prep (Qiagen, Valencia, CA) del grupo de salida de la tercera ronda de paneo de clones se digirió con la enzima de restricción EagI (New England Biolabs, MA). El producto de digestión sin el gen III se dejó autoligar con ADN ligasa T4 (New England Biolabs, MA) y se usó para transformar células TOP10 de *E. coli* 55 químicamente competentes (Invitrogen, Carlsbad, CA). Las colonias individuales transformadas en placas de 96 pocillos se usaron entonces para generar extractos periplásmicos bacterianos de acuerdo con métodos convencionales, con una relación de volumen 1:3 de solución de PBS enfriada en hielo (Teknova, Hollister, CA) y agua doble destilada (ddH₂O) y dos comprimidos de cóctel de inhibidor de proteasa (Roche, IN). Los sobrenadantes 60 lisados se ensayaron mediante ELISA, como se describe más adelante.

B. Bibliotecas de presentación de fagos de anticuerpo inmunizado

65 Se generó una biblioteca de presentación en fago Omniclonal™ a partir de ratones hiperinmunizados con complejo hINSR-hINS de acuerdo con los métodos descritos en el documento US 6.057.098. El material de inmunización consistía en cantidades aproximadamente equimolares de insulina humana recombinante (n.º de cat. 19278, Sigma-

Aldrich, Inc. St. Louis, MO) e INSR humano recombinante (28-956) (n.º de cat. 1544-IR/CF, R&D Systems, MN). La concentración de proteína del complejo era de aproximadamente 0,24 mg/ml. Las colonias individuales, obtenidas a partir de la biblioteca Omniclonal™ de acuerdo con el protocolo de la Patente de Estados Unidos n.º 6.057.098, se exploraron respecto de la actividad de unión en un ensayo ELISA, tal como se describe más adelante.

(2) Exploración ELISA de clones de anticuerpos en el complejo hINSR/hINS

Se recubrieron placas Maxisoip® para ELISA (Thermo Fisher Scientific, Rochester, NY) durante toda la noche a 4 °C con 3 µg/ml de hINSR en PBS. Entonces se bloquearon las placas durante 1 h a TA con 400 µl/pocillo de leche/PBS al 5 %. Para generar pocillos que contenían el complejo hINSR-hINS, se dejaron unir 50 µl/pocillo de hINS (2,1 µM) al hINSR durante 30 min a TA. También se bloquearon los extractos periplásmicos bacterianos con leche/PBS al 5 % durante 1 h y después se añadieron a la placa de ELISA recubierta (50 µl/pocillo) y se dejaron unir bien a hINSR o a complejo hINSR-hINS en la placa de ELISA durante 2 h a TA. El Acm anti-hINSR 83-7 murino se usó como control positivo de exploración de ELISA (Soos et al, Biochem. J. 235: 199-208, 1986). Los fragmentos scFv unidos se detectaron con Acm anti-c-myc murinos (Roche, IN) durante 1 h a TA seguido de anticuerpo de cabra anti-ratón conjugado a HRP (Thermo Scientific, Rockford, IL). Se efectuaron tres lavados con PBS-TWEEN-20 al 0,1 % (Teknova, Hollister, CA) después de cada etapa de las exploraciones ELISA. El Acm 83-7 de control positivo se detectó mediante anticuerpo de cabra anti-ratón conjugado a HRP (Thermo Scientific, Rockford, IL) después de incubación durante 1 h a TA. El color se reveló a una absorbancia de 450 nm con 50 µl/pocillo de sustrato de 3,3',5,5'-tetrametilbencidina (TMB) soluble (EMD chemicals, Calbiochem, NJ) y se detuvo con H₂SO₄ 1M (50 µl/pocillo).

Resultados

La exploración ELISA de los extractos periplásmicos bacterianos identificó múltiples moléculas de unión a hINSR o al complejo hINSR-hINS que se originaron a partir de la selección de paneo de fagos. El cincuenta y ocho por ciento (868 de 1.488) de los clones seleccionados a partir de la biblioteca no expuesta previamente fueron capaces de unirse al hINSR o al complejo hINSR-hINS. El cuarenta y tres por ciento (200 de 465) de los clones seleccionados a partir de la biblioteca inmunizada fueron capaces de unirse al hINSR o al complejo hINSR-hINS. También se ensayaron extractos periplásmicos de los clones seleccionados mediante FACS (véase el ejemplo 2). Los clones seleccionados se reformatearon en forma de anticuerpos de IgG1 o IgG2. Las cadenas variables pesadas (VH) y ligeras (VL) de los fragmentos de scFv seleccionados se amplificaron mediante la PCR, se clonaron en vectores de plásmido que contenían genes constantes de anticuerpo, y se transfectaron en células 293EEBNA humanas usando métodos convencionales.

Ejemplo 2

Exploración de ocupación de receptor para determinar la unión de anticuerpo a INSR en presencia o ausencia de insulina humana

Este ejemplo describe el uso de ensayos basados en citometría de flujo (FACS) para medir la unión diferencial de anticuerpos a células en presencia o ausencia de insulina humana (hINS). Se exploraron anticuerpos anti-receptor de insulina (INSR) a partir de bibliotecas de presentación de fagos en ensayos para identificar moduladores de la unión INSR-INSR.

Se obtuvieron células IM-9 de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC) y se mantuvieron en RPMI 1640 + FBS al 10 %. Antes de su uso en ensayos, se lavaron las células en RPMI 1640 sin suero, se contaron y se ajustó la concentración a 2×10^6 células/ml en RPMI 1640 + BSA al 0,5 % (Sigma-Aldrich). Las células se cultivaron durante toda la noche en este medio y como tales se denominaron como "privadas de suero". Estas células se lavaron una vez y se resuspendieron a 2×10^6 células/ml en PBS que contenía BSA al 0,5 % y azida de sodio al 0,01 % (tampón de FACS).

Las células expuestas a insulina se resuspendieron en tampón de FACS suplementado con insulina humana 70 nM (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Ambas poblaciones de células (+hINS) o (-hINS) se incubaron a 4 °C durante 30 minutos, se lavaron una vez con tampón de FACS y se resuspendieron a 2×10^6 células/ml en tampón de FACS. Se emplacaron alícuotas de células de veinticinco microlitros en placas de 96 pocillos, se mezclaron con 25 µl de anticuerpo o de PPE y se incubaron sobre hielo durante 1 h.

Entonces se lavaron una vez las células con tampón de FACS y se detectó la unión del anticuerpo mediante la adición de 25 µl de un anticuerpo secundario conjugado a fluorocromo adecuado. Si la incubación inicial había sido con PPE que contenía un anticuerpo marcado con myc, se añadieron 25 µl de una dilución 1/1000 de un anticuerpo anti-c-myc (Roche) a los pocillos y las células se incubaron sobre hielo durante 30 min. Entonces se lavaron las células una vez con tampón de FACS y la unión del anti-c-myc se reveló mediante la adición de una IgG anti-ratón conjugada a ficoeritrina. Después de una incubación final de 15 min sobre hielo las células se lavaron y los sedimentos se resuspendieron en tampón de FACS. Las células se analizaron en un FACSCAN™ (Becton-Dickinson, Milipitas, CA) y los datos se analizaron tanto con FLOWJO™ (Treestar, Ashland, OR) y Microsoft Excel™.

Este ensayo permitió la detección de cuatro tipos de anticuerpo, cuyos ejemplos se muestran en la figura 1:

1. Anticuerpos que solo se unen a células IM-9 si se han expuesto a insulina humana (se unen exclusivamente al complejo INS/INSR)
2. Anticuerpos que se unen mejor a células IM-9 si se han expuesto a insulina humana (se unen preferentemente al complejo INS/INSR)
3. Anticuerpos que se unen peor a células IM-9 si se han expuesto a insulina humana (se unen preferentemente a INSR no complejado).

Se puntuó a los anticuerpos como moduladores positivos predichos si la relación de unión de anticuerpo a complejo INS/INSR:anticuerpo que se une a INSR no complejado fue mayor de 1,3. Se puntuó a los anticuerpos como moduladores negativos predichos si la relación de unión de anticuerpo a complejo INS/INSR:anticuerpo que se une a INSR no complejado fue menor de 0,6. Se puntuó a los anticuerpos como no moduladores si la relación de unión de anticuerpo a complejo INS/INSR:anticuerpo que se une a INSR no complejado fue mayor de 0,9 pero menor de 1,1.

Ejemplo 3

Exploración de ligando biotinilado para determinar los efectos de anticuerpos anti-INSR en la unión de insulina a INSR

Este ejemplo describe el uso de ensayos basados en FACS para medir la unión diferencial de ligando (insulina humana) a células en presencia o ausencia de anticuerpos anti-INSR. Se exploraron anticuerpos anti-INSR a partir de bibliotecas de presentación de fagos en ensayos para identificar moduladores del complejo INS-INSR.

Se obtuvieron células IM-9 de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC) y se mantuvieron en RPMI 1640 + FBS al +10 %. Antes de su uso en ensayos, se lavaron las células en RPMI 1640 sin suero, se contaron y se ajustó la concentración a 2×10^6 células/ml en RPMI 1640 + BSA al 0,5 % (Sigma-Aldrich). Las células se cultivaron durante toda la noche en este medio y como tales se denominaron como "privadas de suero". Estas células se lavaron una vez y se resuspendieron a 2×10^6 células/ml en PBS que contenía BSA al 0,5 % (tampón de unión).

Se expuso previamente a células privadas de suero a anticuerpos para INSR a temperatura ambiente durante 15 minutos y después se incubaron con diversas concentraciones de insulina humana biotinilada adquirida a través de R&D Systems durante 30 minutos adicionales a temperatura ambiente. La unión de la insulina biotinilada se reveló mediante la adición de una dilución 1/100 de estreptavidina-ficoeritrina a esta mezcla durante 15 minutos adicionales a temperatura ambiente. Entonces se lavaron las células una vez con tampón de unión y se resuspendieron en volúmenes iguales de FBS que contenía BSA al 0,5 %, azida de sodio al 0,1 % y paraformaldehído al 2 %. Las células se analizaron en un FACSCAN™ (Becton-Dickinson, Milipitas, CA) y los datos se analizaron tanto con FLOWJO™ (Treestar, Ashland, OR) y Microsoft Excel™.

La figura 2 muestra la unión de insulina biotinilada a células IM9 en presencia o ausencia de anticuerpos anti-INSR a diferentes concentraciones de insulina. El anticuerpo 83-7 mejoró la unión de insulina biotinilada; el anticuerpo MA-20 redujo la unión de insulina biotinilada; la IgG de ratón de control no tuvo efecto en la unión de insulina biotinilada.

Ejemplo 4

Ensayo para determinar la capacidad de anticuerpos anti-INSR para estimular la fosforilación de pIRS-1

Las proteínas de sustrato que se fosforilan por el INSR incluyen una proteína denominada sustrato de receptor de insulina 1 (IRS-1). La fosforilación de IRS-1 para formar pIRS-1 da lugar en última instancia a un aumento en las moléculas de transportador de glucosa de alta afinidad (Glut4) en la membrana externa de los tejidos que responden a insulina, y por lo tanto a un aumento en la captación de glucosa desde la sangre al interior de estos tejidos. Se desarrolló un ensayo de pIRS-1 usando la plataforma de tecnología Luminex® (Luminex Corp., Austin, TX). Se desarrollaron dos modos de ensayo: (a) titulación de anticuerpo de ensayo a una concentración fija de insulina, y (b) titulación de insulina a una concentración fija de anticuerpo. Se ensayaron anticuerpos anti-INSR seleccionados basándose en su unión diferencial a INSR complejado y no complejado en los ensayos para identificar moduladores de la señalización del complejo INS-INSR.

Tratamiento y lisis de células

Se privó de suero a células IM-9 durante 16-20 horas mediante recuento, centrifugación, lavado una vez con PBS y resuspendiéndolas a aproximadamente 2×10^6 células/ml en RPMI + BSA Sigma Cohn V al 0,5 % (solución madre al 10 % en RPMI, esterilizada por filtración, almacenada a 4 °C).

Se prepararon soluciones de insulina concentradas 2X (solución madre líquida de Sigma I-9278 (10 mg/ml) 1,77 mM a 4 °C) en RPMI + BSA al 0,5 %. Una titulación de insulina estándar puede incluir diluciones en serie de 5 veces de,

por ejemplo, 6,25 nM, 1,56 nM, 0,39 nM, 0,097 nM, 0,024 nM, 0,006 nM, 0,0015 nM, 0 nM.

Se emplearon tampón Milliplex MAP de Cell Signaling y kit de detección (Millipore, n.º de catálogo 48-602) y Fosfo-IRS-1 MAP Mates (Millipore, n.º de catálogo 46-627) para la detección de niveles de pIRS-1, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En resumen, se prepararon placas con fondo en V que contenían 50 µl/pocillo de medio de tratamiento 2X (RPMI, que contiene BSA al 0,5 % +/- anticuerpo de ensayo) y se añadieron 1 x 10⁶ células IM-9 privadas de suero en 50 µl de RPMI + BSA al 0,5 % por pocillo. El pretratamiento de anticuerpo se llevó a cabo durante 15 minutos antes del tratamiento de insulina, bien (a) en forma de una mezcla en bruto de anticuerpo/células que después se aplicó a pocillos que contenían diluciones en serie de insulina, o (b) añadiendo células directamente a pocillos que contenían diluciones en serie y añadiendo pequeñas cantidades de insulina a 0,1 nM. Las placas se colocaron en un incubador a 37 °C y se centrifugaron a 1500 rpm a TA durante los últimos 3 minutos del tiempo de tratamiento (15 minutos en total). El sobrenadante se retiró mediante inversión y sacudida suave y los sedimentos de células tratadas se lisaron triturando 3 veces usando una pipeta multicanal con 100 µl de tampón de lisis preparado de acuerdo con la tabla 4 a continuación (los componentes lábiles, es decir, inhibidores de proteasas y benzonasa, se añadieron justo antes de su uso). Las placas se colocaron en un agitador a TA durante 30 minutos y se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos para aclarar el lisado y retirar cualquier burbuja de aire que pudiese haber aparecido durante la trituración. Se retiraron 50 µl de lisado aclarado y se diluyeron a 1:1 en 50 µl de tampón de ensayo 1 (AB-1) del kit de detección, se trituró 2-3 veces para mezclar y se cargaron 50 µl en una placa de filtro de membrana sobre los 25 µl/pocillo de perlas diluidas (véase más adelante).

Tabla 4: Componentes del tampón de lisis

Tampón de lisis	10 pocillos 1 ml	20 pocillos 2 ml	25 pocillos 2,5 ml	30 pocillos 3 ml	40 pocillos 4 ml	50 pocillos 5 ml	60 pocillos 6 ml	100 pocillos 10 ml
Tampón de lisis (Millipore, n.º de cat. 43-040)	1	2	2,5	3	4	5	6	10
madre SDS al 20 %	0,045	0,09	0,1125	0,135	0,18	0,225	0,27	0,45
MgCl 50mM	0,02	0,04	0,05	0,06	0,08	0,1	0,12	0,2
(Invitrogen, n.º de cat. Y02016)								
Inhibidores de proteasa (50X) (Millipore, n.º de cat. 20-201)	0,02	0,04	0,05	0,06	0,08	0,1	0,12	0,2
Benzonasa EMD								
1.01697.0002 a 250 µg/ml	0,004	0,008	0,01	0,012	0,016	0,02	0,024	0,04

Las membranas de la placa de filtro (Millipore, n.º de cat. MABVN1250) se humectaron previamente con 25 µl de AB-1/pocillo. El tampón de humectado previo se aspiró de la placa de filtro usando un colector de vacío de Millipore, con cuidado de no secar las membranas, y se transfirió cualquier líquido restante del fondo de la placa de filtro. Se añadieron 25 µl de suspensión de perlas 1X por pocillo (las perlas de pIRS-1 (Millipore, n.º de cat. 46-627) se prepararon previamente mediante dilución a partir de concentrado 20X en tampón AB-1 y se agitaron vorticialmente y se sonicaron de manera alterna durante 5 segundos 3 veces cada una).

Los pocillos de la placa de filtro se cubrieron con un sellador de placas, se cubrieron con film de aluminio para prevenir la exposición a la luz, y se incubaron en un agitador de placas (ajuste 7-8 en un agitador de placas Labline, Bellco o un modelo similar) bien a TA durante 2 horas o como alternativa a 4 °C durante toda la noche.

Detección Luminex

Las placas de filtro se aspiraron y se transfirieron sus fondos. Las perlas permanecieron en el pocillo y se lavaron con 100 µl de AB-1 y se colocaron en el agitador durante 1-2 minutos. Las placas se aspiraron, y se repitió la etapa de lavado.

Se añadieron 25 µl por pocillo de anticuerpo de detección biotinilado 1X, diluido a partir de una solución madre 20X en tampón AB-1, y se incubaron las placas en un agitador a TA durante 1 hora. Las placas se aspiraron y se transfirieron sus fondos. Se añadieron 25 µl por pocillo de estreptavidina ficoeritrina 1X, diluido a partir de una solución madre 25X en tampón AB-1, y se incubaron las placas en un agitador a TA durante 15 minutos. Se añadieron 25 µl de tampón de amplificación (Millipore n.º de cat. 48-602) a cada pocillo, y se incubaron las placas en un agitador a TA durante 15 minutos adicionales. Las placas se aspiraron y se resuspendieron las perlas en 150 µl de AB-1 y se leyeron en el instrumento Luminex®.

Resultados

La figura 3 muestra los resultados del ensayo pIRS-1 a partir de titulaciones de insulina en presencia de concentraciones fijas de anticuerpos de ensayo representativos. Las MFI se normalizaron de tal forma que el ajuste máximo de la curva se ajustó al 100 %. Algunos anticuerpos (moduladores positivos) desplazaron la curva de titulación de insulina a la izquierda. Otros anticuerpos (moduladores negativos) desplazaron la curva de titulación de

insulina a la derecha. Se observaron diversas magnitudes de modulación. Los datos en la figura 3 muestran que los anticuerpos producen un aumento de hasta 9 veces, o una disminución de hasta 24 veces, en la sensibilidad a la insulina.

- 5 La figura 4 muestra ejemplos representativos de las diversas clases funcionales de anticuerpo basándose en los datos del ensayo pIRS-1. En cada caso se muestran los resultados de los dos modos de ensayo: (i) titulación de insulina a una concentración fija de anticuerpo, y (ii) titulación de anticuerpo de ensayo a una concentración fija de insulina.
- 10 La figura 5 es una tabla que muestra los valores de CE_{50} de insulina del ensayo de pIRS-1 en presencia o ausencia de concentraciones fijas de diversos anticuerpos de ensayo. Los resultados se clasifican según la relación de CE_{50} de +Ac/-Ac.

Ejemplo 5

Medición de los efectos de anticuerpos anti-INSR en la fosforilación inducida por INSR de AKT y MAPK

El INSR es una tirosina cinasa que se somete a autofosforilación después de la unión de insulina y posteriormente cataliza la fosforilación de proteínas intracelulares, tales como los miembros de la familia del sustrato de receptor de insulina (IRS), Shc, y Gab1. Cada una de estas proteínas sirve como sitio de acoplamiento para el reclutamiento de moléculas de señalización aguas abajo dando como resultado la activación de diversas rutas de señalización, incluyendo las rutas PI(3)K/AKT y de MAP cinasa (MAPK). Estas rutas se coordinan en última instancia para regular el crecimiento y la diferenciación celular, la expresión génica, la síntesis de glucógeno, proteínas y lípidos, y el metabolismo de la glucosa.

Los efectos de un anticuerpo de ensayo en la señalización a través del complejo INS/INSR pueden medirse evaluando la capacidad del anticuerpo para aumentar la fosforilación de serina o tirosina inducida por insulina de proteínas intracelulares específicas, tales como AKT y MAPK (ERK1/2), que son específicas para la ruta de señalización de INSR: La fosforilación de estas proteínas puede medirse y cuantificarse mediante electroquimioluminiscencia, transferencia de Western, ELISA y otras técnicas conocidas en la materia.

En este ejemplo de ensayo se usaron células CHOK1 modificadas por ingeniería genética para expresar el INSR de ser humano o de ratón. Estas células se mantuvieron en medio de crecimiento celular que contenía medio EX-CELL 302 sin suero para células CHO (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO), L-glutamina 2 mM, y GENETICIN® 0,4 mg/ml (Invitrogen, Carlsbad, CA). Las células CHOK1 progenitoras se usaron como control y se mantuvieron en medio de crecimiento sin GENETICIN®.

En el día antes del ensayo, las células se lavaron con PBS, se resuspendieron a 1×10^6 células/ml en medio de ayuno que contenía RPMI 1640 (Invitrogen), L-glutamina 2 mM, GENETICIN® 0,4 mg/ml y BSA al 0,5 %, y se incubaron durante 16-20 horas en un incubador a 37 °C con CO₂ al 5 %. Las células CHOK1 progenitoras se incubaron en medio de ayuno sin GENETICIN®. Al día siguiente, las células se resuspendieron en PBS con BSA al 0,5 % y se añadieron 1×10^5 células a los pocillos de una placa de 96 pocillos. El anticuerpo de ensayo se añadió a 0, 1, o 10 µg/ml, aproximadamente 10 minutos antes de la adición de insulina. Después de incubar durante 5-60 minutos en un incubador a 37 °C con CO₂ al 5 %, las células tratadas se centrifugaron y lisaron en un tampón que contenía Tris-HCl 20 mM (pH 7,5), NaCl 150 mM, EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, Triton X-100 al 1 %, NaF 10 mM, cócteles de inhibidor de fosfatasa 1 y 2 (Sigma-Aldrich), e inhibidor de proteasa Complete Mini (Roche Diagnostics Corporation, Indianápolis, IN) durante 1 hora con agitación a 4 °C. Los lisados se aclararon mediante centrifugación a 485 x g durante 3 minutos. Se usó electroquimioluminiscencia usando el sistema de ensayo MesoScale Discovery Multi-spot (Meso Scale Discovery, Gaithersburgo, MD) para cuantificar la cantidad de AKT o MAPK fosforiladas presentes en los lisados. Los datos se analizaron usando GraphPad Prism® (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA) para calcular los valores de EC_{50} a partir de una ecuación logística de 4 parámetros.

Para el análisis de actividad agonista, el ensayo se llevó a cabo del modo siguiente. En el día antes del ensayo, se lavaron las células con PBS, se resuspendieron a 1×10^6 células/ml en medio de ayuno que contenía RPMI 1640 (Invitrogen), L-glutamina 2 mM, GENETICIN® 0,4 mg/ml y BSA al 0,5 %, y se incubaron durante 16-20 horas en un incubador a 37 °C con CO₂ al 5 %. Las células CHOK1 progenitoras se incubaron en medio de ayuno sin GENETICIN®. Al día siguiente, las células se resuspendieron en PBS con BSA al 0,5 % y se añadieron 1×10^5 células a los pocillos de una placa de 96 pocillos. Después de incubar con anticuerpo de ensayo durante 5-60 minutos en un incubador a 37 °C con CO₂ al 5 %, las células tratadas se centrifugaron y lisaron en un tampón que contenía Tris-HCl 20 mM (pH 7,5), NaCl 150 mM, EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, Triton X-100 al 1 %, NaF 10 mM, cócteles de inhibidor de fosfatasa 1 y 2 (Sigma-Aldrich), e inhibidor de proteasa Complete Mini (Roche Diagnostics Corporation, Indianápolis, IN) durante 1 hora con agitación a 4 °C. Los lisados se aclararon mediante centrifugación a 485 x g durante 3 minutos. Se usó electroquimioluminiscencia usando el sistema de ensayo MesoScale Discovery Multi-spot (Meso Scale Discovery, Gaithersburgo, Maryland) para cuantificar la cantidad de AKT o MAPK fosforiladas presentes en los lisados. Los datos se analizaron usando GraphPad Prism® (GraphPad Software Inc., La Jolla, CA) para calcular los valores de EC_{50} a partir de una ecuación logística de 4 parámetros.

La figura 6 muestra resultados de ensayos de pAKT para anticuerpos representativos de: (A) moduladores positivos (aumentan la transducción de señal inducida por insulina); (B) moduladores positivos con agonismo (aumentan la transducción de señal inducida por insulina); (C) no moduladores (sin efecto significativo en la transducción de señal inducida por insulina); (D) agonistas (aumentan la transducción de señal independientemente de insulina; pueden tener o no actividad moduladora); (E) moduladores negativos (disminuyen la transducción de señal inducida por insulina). Los resultados del ensayo también indican si los anticuerpos muestran reactividad cruzada funcional, es decir, si tienen efectos en la señalización mediada por INSR tanto humano como de ratón.

Ejemplo 6

Los anticuerpos anti-INSR muestran un espectro de agonismo

Se usaron el ensayo de pIRS-1 del ejemplo 4 y el ensayo de PAKT del ejemplo 5 para medir el grado de agonismo de anticuerpos anti-INSR seleccionados. En lugar de usar titulaciones de anticuerpos o insulina, se añadieron 5 µg/ml de anticuerpo anti-INSR al ensayo en ausencia de insulina. El ensayo midió el nivel de activación inducida por anticuerpo de la señalización a través de INSR en ausencia de insulina (agonismo).

La figura 7 muestra los resultados tabulados para ilustrar que los anticuerpos seleccionados muestran un espectro de agonismo.

Ejemplo 7

Cambio en la cooperatividad de la unión de insulina a INSR efectuada por un anticuerpo de INSR modulador positivo

Se llevó a cabo el ensayo de pAKT del ejemplo 5 en uno de los anticuerpos moduladores positivos, usando diversas concentraciones de anticuerpo y añadiendo una dilución seriada de insulina. Los resultados se muestran en la Figura 8. La figura 8A muestra que hay una respuesta a la dosis de la unión de INSR en presencia de diversas concentraciones de anticuerpo e insulina. La figura 8B muestra la pendiente de Hill relativa de la interacción insulina-INSR en presencia de diversas concentraciones de anticuerpo.

Ejemplo 8

Mejora de la captación de glucosa por un anticuerpo de INSR modulador positivo

Se midieron los efectos de un anticuerpo de INSR modulador positivo en la captación de glucosa de adipocitos 3T3-L1. Tras el tratamiento con insulina, INSR se fosforila, activando una ruta de transducción de señales que da lugar a captación de glucosa aumentada por el transportador 4 de glucosa (GLUT4) en adipocitos (grasa) o miocitos (músculo). La medición de la captación de glucosa proporciona un criterio de valoración relevante para la sensibilidad a la insulina.

Se empleó un ensayo que usaba ³H-2-desoxiglucosa como sustrato para GLUT4 (Zen-Bio, Inc., Research Triangle Park, NC). En resumen, se diferenciaron preadipocitos 3T3-L1 en isoplasmas de 96 pocillos. Después de la maduración, las células se lavaron 2 veces con tampón de ensayo y se dejaron reposar las células en tampón de ensayo durante 4 horas. Las células se trataron con anticuerpo anti-INSR, o anticuerpo de control (10 µg/ml) y concentraciones seriadas de insulina, o insulina a 0,8 nM durante 15 minutos. Después de 15 minutos se inició la captación de glucosa añadiendo cóctel de ³H-2-desoxiglucosa y se incubaron las células a 37 °C, CO₂ al 5 % durante 10 minutos. Después de 10 minutos, las células se lavaron con PBS, se lisaron, y se mezclaron con fluido de centelleo. Se midieron las CPM de cada pocillo. Se usó citocalasina B (10 µM) como control negativo.

Los resultados se muestran en la figura 9. La figura 9 muestra el potenciamiento de la captación de glucosa dependiente de insulina por un anticuerpo modulador positivo. El anticuerpo modulador positivo da como resultado un aumento de aproximadamente 2 veces en la captación de ³H-2-desoxiglucosa por células 3T3-L1 en presencia de 10 µg/ml de anticuerpo de ensayo Ab001 en comparación con solo insulina.

Estos resultados sugieren que los anticuerpos moduladores positivos son útiles para inducir la captación de glucosa *in vivo* y tratar a pacientes que muestran resistencia a la insulina.

Ejemplo 9

Medición de los efectos de anticuerpos anti-INSR en la eliminación de glucosa en medio de cultivo celular

La eliminación de glucosa del medio de cultivo celular puede usarse como medida subrogada de la captación de glucosa. Los efectos de los anticuerpos anti-INSR en la eliminación de glucosa del medio se miden del modo siguiente.

Para medir la eliminación de glucosa, se usa un autokit de glucosa de Wako (n.º de cat. 439-90901, Autokit C) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En resumen, Se emplazan líneas celulares CHOK1 adaptadas a adherencia con DMEM + FBS al 10 % en placas de 24 o 96 pocillos a una concentración adecuada. Las células se privan de glucosa y suero durante toda la noche en DMEM con BSA al 0,5 % (sin glucosa) antes de su uso. El medio de ayuno se aspira y se añade medio que consiste lo siguiente en presencia y ausencia de anticuerpo de ensayo o anticuerpo de control de isotipo: grupo 1, 4 partes de DMEM sin glucosa: 1 parte de DMEM alto en glucosa (0,9 mg/ml); grupo 2, 4 partes de DMEM sin glucosa: 1 parte de DMEM alto en glucosa (0,9 mg/ml) + insulina. En cada instante deseado, se retiran muestras de 2 µl de medio de cada pocillo y se añaden a 118 µl de solución de trabajo de Wako. En algunas realizaciones, las muestras se toman a las 0, 1, 2,5, 5, 10, y 24 horas. La captación de glucosa se evalúa con el dispositivo FLEXSTATION a una absorbancia de 505 nm y 600 nm. La cantidad de glucosa se determina del modo siguiente: [lectura media para muestras similares]/[lectura media para patrones]. El recuento celular se obtiene antes y al final del experimento para normalizar respecto del crecimiento celular.

Ejemplo 10

Medida de los efectos de anticuerpos anti-INSR en el equilibrio entre señalización de INSR mitogénica y metabólica

INSR señala a través de dos rutas principales (1) la ruta de PI3 cinasa/PDK1/PKB que regula principalmente el metabolismo, con cierta influencia en el crecimiento y (2) la ruta mitogénica de Ras/ERK que regula principalmente el crecimiento celular. Los efectos de anticuerpos anti-INSR en el equilibrio entre señalización de INSR mitogénica y metabólica se miden tal como se describe en la técnica. Véase, por ejemplo, Jensen et al. (Vitam Horm. 80:51-75, 2009), De Meyts y Shymko, (Novartis Found. Symp. 227:46-57, 2000); y Rakatzi et al. (Diabetes 52:2227-2238, 2003).

Ejemplo 11

Medición de los efectos *in vivo* de anticuerpos anti-INSR

Los anticuerpos anti-INSR en los que se observa que tienen reactividad cruzada con INSR de ratón se miden en una serie de modelos *in vivo*. En el modelo, se alimenta a ratones C57BL/6J (B6) macho (The Jackson Laboratory, Maine) con una dieta alta en grasas (HFD) durante doce semanas, volviéndolos obesos, de leve a moderadamente hiperglucémicos y con tolerancia impedida a la glucosa. Este modelo se usó para evaluar la capacidad de los anticuerpos de INSR para afectar a la sensibilidad a la insulina en una configuración estrechamente controlada. Este sistema permite también una comparación directa de la acción y modulación de INSR en condiciones normales frente a patológicas. En este experimento, se dosifica a ratones DIO o B6 de edad emparejada con anticuerpo de INSR 24 horas antes de la administración de una dosis submáxima predefinida de insulina en una prueba de tolerancia a la insulina (ITT). La IgG de control o la insulina máxima sirven como controles positivos o negativos, respectivamente. La capacidad de respuesta a la insulina se evalúa midiendo la glucosa en plasma; una mayor reducción de la glucosa a los 60 minutos sugiere una respuesta de INSR aumentada. En un estudio separado, se dosifica a ratones DIO o B6 con anticuerpo 24 horas antes de la prueba de tolerancia a la glucosa (GTT). Mediante esta medición, la glucosa en ayunas y el área bajo la curva (ABC) disminuidas indican una sensibilidad mejorada a la insulina.

Se usan dos modelos murinos para evaluar el impacto de anticuerpos de INSR en la progresión de la diabetes de tipo 2, ratones ob/ob (The Jackson Laboratory, ME) son deficientes para leptina, volviéndose obesos y solo levemente hiperglucémicos debido a la hiperinsulinemia compensatoria. En este modelo, los animales reciben anticuerpos de INSR comenzando a las 6 semanas o rosiglitazona, (agonista de PPAR gamma), y agente que se ha demostrado previamente que mejora en control glucémico en estos animales. Como en el estudio DIO, el control glucémico se evalúa mediante ITT y GIT, cada 2 semanas durante 6 semanas. Además, la hemoglobina A1c (HbA1c), un indicador clave de glucosa en plasma elevada prolongada, y un panel lípido, se evalúan al final del estudio. En el segundo modelo, el modelo de estreptozocina (STZ)/HFD, se eliminan por ablación las células beta pancreáticas en ratones Swiss Albino (The Jackson Laboratory, Maine) mediante múltiples bajas dosis de estreptozocina, mientras que la resistencia a la insulina se induce mediante alimentación con HFD. En este modelo, los animales son gravemente hiperglucémicos debido a la disfunción de la producción de insulina pancreática, una situación análoga a la T2D en fase tardía (Dakshinamoorthy et al, J. Pharm. and Pharmacology 60: 1167-73 (2008)). Se trata y evalúa a los animales STZ/HFD de un modo similar al modelo ob/ob para medir el efecto de los anticuerpos de INSR en la progresión de la enfermedad.

Ejemplo 12

Efectos de anticuerpos anti-INSR agonistas parciales en el control glucémico en ratones DIO

En el modelo de obesidad inducida por dieta (DIO), los ratones C57BL/6 pueden volverse resistentes a la insulina después de aproximadamente 12-14 semanas con dieta rica en grasas (HFD). Los anticuerpos anti-INSR que demostraron comportarse como agonistas parciales o moduladores positivos *in vitro* se evaluaron en este modelo

para determinar si estos anticuerpos mejoraban la sensibilidad a la insulina y/o el control glucémico *in vivo*.

Para determinar si los anticuerpos anti-INSR agonistas parciales reducen la glucosa en sangre en ayunas, se sometió a ayuno a ratones DIO de 20 semanas de edad (14 semanas con HFD; n = 8/grupo) durante 5 horas y se les expuso por vía intravenosa con los anticuerpos agonistas parciales Ab030 y Ab037, o un control de isotipo (5 mg/kg). En estudios de control adicionales, se trató a ratones DIO con insulina (0,5 U/kg), o se dosificó a ratones de edad emparejada alimentados con dieta normal (ND) con control de isotipo (5 mg/kg). Se muestreó la glucosa en sangre antes de la inyección (tiempo = 0) y 1, 2 y 4 horas después de la administración. En comparación con los controles de edad emparejada, se observó glucosa en sangre aumentada en los ratones DIO (alimentados con HFD/control de isotipo) en el instante de 1 hora, lo que es coherente con la resistencia a la insulina en animales alimentados con HFD (figura 10A). La administración de insulina o de cualquiera de los anticuerpos agonistas parciales dio como resultado una reducción estadísticamente significativa ($p < 0,05$; prueba de t de una cola) en la glucosa en sangre (figura 10B). Ningún anticuerpo indujo hipoglucemia en ningún instante (definida como glucosa en sangre < 36 mg/dl). Estos resultados sugieren que los anticuerpos agonistas parciales anti-INSR reducen de manera segura y eficaz la glucosa en sangre en ayunas.

Para evaluar adicionalmente el efecto de un anticuerpo anti-INSR agonista parcial en el control glucémico, se inyectó por vía intraperitoneal (IP) a ratones DIO de 18 semanas de edad (12 semanas con HFD; n = 8/grupo) con Ab037 (0,1, 1,0 o 9 mg/kg) o control de isotipo (1,0 mg/kg). Como controles adicionales, se dosificó a ratones de edad emparejada con control de isotipo (1,0 mg/kg) o se administró insulina a animales DIO (0,75 U/kg; IP). Se llevó a cabo una prueba de tolerancia a la glucosa (GTT) 24 horas después de la administración del anticuerpo (30 min después de la insulina) sometiendo a ayuno a los animales durante 16 horas (comenzando aproximadamente 8 horas después de la administración del anticuerpo), inyectando glucosa (1,0 U/kg) y efectuando un seguimiento de la glucosa en sangre durante 2 horas. En este experimento, La HFD no tuvo un impacto significativo en la glucosa en ayunas (figura 11B) o en el pico de glucosa después del bolo (figura 11A). Sin embargo, en los ratones DIO, el anticuerpo agonista parcial redujo significativamente la glucosa en sangre en ayunas en relación al control de isotipo cuando se administró a o por encima de 1,0 mg/kg (figura 11B) y redujo el área bajo la curva (ABC) de GTT a 9,0 mg/kg (figura 11C).

Este resultado demuestra que un anticuerpo agonista parcial anti-INSR puede reducir la glucosa en ayunas y mejorar el control glucémico *in vivo*.

Ejemplo 13

Efectos de anticuerpos anti-INSR moduladores positivos en el control glucémico en ratones DIO

Para determinar si un anticuerpo anti-INSR modulador positivo mejora la sensibilidad a la insulina *in vivo*, se administraron a ratones DIO de 18 semanas de edad (n = 8/grupo) inyecciones IP de Ab001 (modulador positivo) (0,1, 1,0 o 10 mg/kg), anticuerpo agonista parcial (Ab037) (10 mg/kg) o control de isotipo (1,0 mg/kg). Los ratones de edad emparejada alimentados con ND a los que se dosificó control de isotipo (1,0 mg/kg) sirvieron como control adicional (figura 12A). Veinticuatro horas después, se llevó a cabo una prueba de tolerancia a la insulina (ITT) administrando insulina (0,5 U/kg) después de un ayuno de 5 horas y controlando los niveles de glucosa en sangre durante 2 horas. La HFD no tuvo un impacto significativo en la glucosa en ayunas (figura 12B) o el ABC de ITT (figura 12C) en relación a la dieta regular, y ni la administración de anticuerpo agonista parcial (Ab037) ni de anticuerpo modulador positivo (Ab001) dio como resultado una ABC de ITT menor de manera estadísticamente significativa, en relación a animales DIO tratados con control de isotipo (figura 12C). El anticuerpo agonista parcial Ab037 redujo significativamente la glucosa en ayunas, mientras que el anticuerpo modulador positivo Ab001 indujo una tendencia no estadísticamente significativa dependiente de la dosis hacia una glucosa en ayunas reducida.

A la semana siguiente, se llevó a cabo una GTT en los mismos animales tras una dosis adicional de anticuerpo (figura 13A). En este estudio, la HFD dio como resultado un aumento no estadístico en la glucosa en ayunas (figura 13B) y en la ABC de GTT (figura 13C) en comparación con los animales alimentados con control. En comparación con los ratones DIO tratados con control de isotipo, el anticuerpo agonista parcial y el anticuerpo modulador positivo redujo significativamente la glucosa en ayunas a todas las dosis ensayadas. Además, tanto el anticuerpo agonista parcial como el anticuerpo modulador positivo redujeron significativamente el ABC de GTT a 10 mg/kg en relación al control de isotipo.

Se investigó el efecto de Ab001 y Ab037 en los parámetros lipídicos tratando a ratones DIO de 18 semanas de edad por vía IP dos veces a la semana (BIW) con anticuerpo (10 mg/kg; n = 5/grupo) durante doce semanas. En este experimento, se observó una eficacia similar al estudio de dos semanas (tal como se ha descrito anteriormente) con respecto a la glucosa en ayunas, GTT e ITT. Al final del estudio, se recogió plasma para medir los lípidos usando técnicas basadas en ELISA convencionales. En relación al control de isotipo, tanto Ab001 como Ab037 redujeron los triglicéridos y los niveles de colesterol total en ayunas en ratones DIO ($p < 0,05$; figura 14A y 14B), lo que sugiere que estos anticuerpos son capaces de mejorar la desregulación de lípidos asociada con la resistencia a la insulina.

Se evaluaron dos anticuerpos anti-INSR moduladores positivos adicionales respecto de la mejora de parámetros

glucémicos *in vivo* usando ratones DIO de 18 semanas de edad (n = 10/grupo). En este estudio, se compararon los anticuerpos moduladores positivos Ab083 y Ab085 frente a Ab001 y Ab037 y un anticuerpo de control de isotipo. Un grupo alimentado con ND de edad emparejada tratado con anticuerpo de control de isotipo sirvió como control adicional. Todos los anticuerpos fueron dosificados IP a 10 mg/kg BIW. Un día después de la tercera dosis de anticuerpo, se midió la glucosa en sangre en ayunas y se llevó a cabo una GTT. El control glucémico se vio significativamente impedido en ratones DIO tratados con control de isotipo en relación a animales de edad emparejada tratados de manera similar alimentados con ND, según se refleja mediante una evaluación de transcurso de tiempo de GTT y la correspondiente determinación del ABC (figura 15A y 15B). En este experimento, Ab037 y Ab083 mejoró el ABC a niveles no distinguibles de los normales ($p < 0,05$ en relación a HFD/control de isotipo), mientras que Ab001 no produjo mejoras significativas. De manera similar, con respecto a la glucosa en ayunas, se observó una diferencia significativa entre ratones DIO y ratones alimentados con ND de edad emparejada tratados con control de isotipo y tanto Ab037 como Ab001 ejercieron efectos normalizantes estadísticamente significativos ($p < 0,05$; figura 15C). Ab083 produjo una mejora leve no estadísticamente significativa en la glucosa en sangre en ayunas, mientras que Ab085 no provocó ningún cambio en este parámetro.

Otra medida de los efectos de anticuerpos anti-INSR en la función *in vivo* es mediante la evaluación del modelo de homeostasia-resistencia a la insulina (HOMA-IR). HOMA-IR es una fórmula matemática empírica basada en la glucosa en plasma en ayunas y los niveles de insulina en plasma en ayunas que se desarrolló como una medida subrogada de la sensibilidad a la insulina *in vivo*: $\text{HOMA-IR} = \text{insulina en plasma en ayunas (mIU/ml)} \times \text{glucosa en plasma en ayunas (mmol/L)} / 22,5$, o como alternativa usando la fórmula: $\text{Insulina (ng/ml)} \times \text{Glucosa (mM)}$, que incorpora el factor de conversión 22,5. Los ejemplos de HOMA-IR se describen en Owyang et al., *Endocrinology* 151:2515-27, 2010 y Matthews et al., *Diabetologia*. 28:412-9, 1985.

Después de 4 semanas de dosificación, se evaluaron la glucosa, insulina y lípidos en plasma. Ab083 y Ab037 redujeron la glucosa en plasma en ese instante, mientras que Ab083 y Ab085 redujeron la insulina ($p < 0,05$; figuras 16A y 16B). Estos efectos se tradujeron en una sensibilidad a la insulina mejorada en este modelo de resistencia a la insulina para Ab083 y Ab085, según se determinó mediante HOMA-IR ($p < 0,05$; figura 16C). Con respecto a los lípidos, Ab085 mejoró significativamente solo los triglicéridos ($p < 0,05$; figura 16D), mientras que Ab083 y Ab037 redujeron de manera significativamente el colesterol no esterificado, el total y el no de HDL ($p < 0,05$; figura 16E-G). Los dos últimos anticuerpos también mejoraron la relación de colesterol no de HDL/HDL (figura 16H). Ab001 redujo de manera significativa el colesterol tanto total como no de HDL.

Sorprendentemente, los cuatro anticuerpos redujeron el aumento de peso en ratones DIO en relación al control de isotipo durante las 3 semanas de tratamiento, sin reducir el peso corporal por debajo del inicial (figura 17A y 17B). Estos resultados demuestran que el anticuerpo modulador positivo Ab083 y el anticuerpo agonista Ab037 corrigen la tolerancia impedida a la glucosa en ratones DIO, que los anticuerpos moduladores Ab083 y Ab085 mejoran la sensibilidad a la insulina y sugieren que todos los cuatro anticuerpos tienen la capacidad de reducir el aumento de peso resultante de la HFD.

Estos resultados sugieren que los anticuerpos agonistas parciales y moduladores positivos específicos para el INSR mejoran el control glucémico en sujetos diabéticos.

Ejemplo 14

Efectos de anticuerpos anti-INSR agonistas parciales y moduladores positivos en el control glucémico y la enfermedad en ratones db/db

Los ratones homocigóticos para el alelo espontáneo *Lepr^{db}* carecen de función de receptor de leptina y se vuelven progresivamente resistentes a la insulina y obesos comenzando a las tres a cuatro semanas de edad. En estos ratones, aumentan los niveles de insulina, hasta aproximadamente las 8-10 semanas de edad, tiempo tras el cual los animales son gravemente resistentes a la insulina e hiperinsulinémicos. Este fondo genético, sin embargo, da como resultado hiperglucemia no controlada, dando lugar a disfunción de las células beta pancreáticas tras aproximadamente 10 semanas de edad y en última instancia a insuficiencia de células beta. Los anticuerpos anti-INSR que demostraron comportarse como agonistas parciales o moduladores positivos *in vitro* se evaluaron en este modelo para determinar si estos anticuerpos mejoraban la sensibilidad a la insulina, el control glucémico y/o la progresión de la enfermedad *in vivo*.

Se usó el ratón db/db para evaluar la actividad de Ab001 y Ab037 en un escenario de resistencia progresiva a la insulina y disfunción de células beta, combinada con obesidad severa. En este experimento, se dosificaron por vía IP Ab001 (1 mg/kg o 10 mg/kg), Ab037 (10 mg/kg) o anticuerpo de control de isotipo (1 mg/kg o 10 mg/kg), BIW a ratones db/db de 5 semanas de edad (n = 10/grupo). Como control adicional, se dosificó a un grupo de compañeros de camada heterocigotos de edad emparejada, que generalmente son fenotípicamente normales, de manera similar con 10 mg/kg de anticuerpo de control de isotipo. Como en el modelo DIO, el aumento de peso se redujo significativamente en animales tratados con 10 mg/kg de Ab001 o Ab037 en relación a los ratones tratados con control de isotipo durante las cinco primeras semanas de tratamiento ($p < 0,05$; figura 18 A y 18C). De manera importante, tras 5 semanas de tratamiento, que corresponden a 10 semanas de edad, cuando los ratones db/db

generalmente comienzan a perder peso como resultado de la pérdida de células beta pancreáticas, ambos anticuerpos reducen la pérdida de peso ($p < 0,05$; figura 18 B y 18D). Tras 10 semanas de tratamiento, se observaron con el tratamiento con Ab001 o Ab037 a 10 mg/kg mejoras significativas en la glucosa en sangre en ayunas en relación a los grupos tratados con control de isotipo correspondientes ($p < 0,05$; figura 19 A). Además, en ese instante, HbA1c se redujo significativamente en el grupo de Ab001 de 1 mg/kg, y también se redujo en menor grado en el grupo de Ab001 a 10 mg/kg ($p < 0,05$; figura 19 B).

La insulina en plasma y los lípidos se evaluaron tras 14 semanas de dosificación. En ese momento, tanto Ab001 (10 mg/kg) como Ab037 aumentaron la insulina circulante a una edad (aproximadamente 20 semanas de edad) a la cual podría esperarse que los animales tuviesen insuficiencia de células beta pancreáticas ($p < 0,05$; figura 20A), lo que sugiere que ambos Acm son capaces de restaurar la producción de insulina en los animales insulínopénicos. Además, Ab001 (10 mg/kg) redujo significativamente los triglicéridos en plasma, colesterol total, el colesterol no de HDL, el colesterol no esterificado y la relación de colesterol no de HDL/HDL ($p < 0,05$; figura 20B-F). Se observó una reducción significativa en el colesterol no esterificado y una tendencia hacia la reducción de los triglicéridos en plasma de animales tratados con Ab037 ($p < 0,05$ y $p = 0,08$, respectivamente; figura 20B y 20C).

De manera interesante, la reducción del aumento de peso sucedió de manera temprana, mientras que los animales eran resistentes a la insulina, pero no se esperó que tuviesen una eliminación grave de células beta, como es el caso en el modelo DIO. Sin embargo, en este experimento, los cambios inducidos por Ab001 en el control glucémico y en la hemoglobina glucada sucedieron únicamente durante la etapa tardía, cuando se esperaría que los animales tuviesen disfunción de células beta. Además, durante este periodo de tiempo, ambos anticuerpos redujeron la pérdida de peso patológica. Sin pretender quedar ligados a teoría alguna, este resultado sugiere que los efectos del anticuerpo anti-INSR en el peso y en el control glucémico pueden tener lugar en tándem, aunque pueden separarse. Estos datos sugieren que Ab001 es capaz de normalizar el peso, mejorando el control glucémico y corrigiendo parcialmente la dislipidemia en condiciones combinadas de resistencia a la insulina y eliminación de células beta.

Para evaluar la actividad de anticuerpos en condiciones gravemente insulínorresistentes e insulínopénicas, los ratones db/db de 10 semanas de edad, de los que podría esperarse que manifestaran disfunción de células beta pancreáticas progresiva, se trataron con Ab001, Ab037, Ab083, Ab085 o anticuerpo de control de isotipo, a 10 mg/kg IP, BIW durante ocho semanas. La glucosa en sangre en ayunas se midió semanalmente durante la duración del estudio. En este estudio, Ab085 redujo significativamente la glucosa en sangre en ayunas en relación al control de isotipo ($p < 0,05$; figura 21). Esto demuestra que Ab085 mejora la enfermedad en condiciones de resistencia a la insulina, hipoinsulinémicas.

Se evaluaron dos anticuerpos anti-INSR moduladores positivos adicionales respecto de la mejora de la resistencia a la insulina en ratones db/db de 5 semanas de edad, lo que podría esperarse que se manifestara como resistencia a la insulina grave. Los ratones se trataron con Ab001, Ab037, Ab083, Ab085 o anticuerpo de control de isotipo, a 10 mg/kg IP, BIW durante cuatro semanas para evaluar el efecto de los anticuerpos en la resistencia a la insulina antes de la aparición de la disfunción de las células beta. La glucosa en plasma en ayunas y la insulina en plasma en ayunas se midieron al final del estudio y se calculó la HOMA-IR. En este estudio, Ab083 y Ab085 mejoraron significativamente la resistencia a la insulina en comparación con el control de isotipo ($p < 0,05$; figura 22), lo que demuestra que estos anticuerpos mejoran la sensibilidad a la insulina en este modelo de diabetes.

Ejemplo 15

Efectos de anticuerpos anti-INSR agonistas parciales y moduladores positivos en el control glucémico y la enfermedad en ratones MLDS/HFD

En el modelo de múltiples dosis bajas de estreptozocina (MLDS)/HFD, la resistencia a la insulina se logra alimentando con HFD a ratones ICR de 6 semanas de edad (40 kcal % de grasa) durante cuatro semanas, tiempo durante el cual se administran 5 dosis diarias de estreptozocina (40 mg/kg, durante la tercera semana) por vía IP para producir la ablación parcial de la función de las células beta. Los anticuerpos anti-INSR que demostraron comportarse como agonistas parciales o moduladores positivos *in vitro* se evaluaron en este modelo para determinar si estos anticuerpos mejoraban la sensibilidad a la insulina, el control glucémico y/o la progresión de la enfermedad *in vivo*.

Para evaluar el efecto de Ab001 y Ab037 en la enfermedad en un modelo combinado de resistencia a la insulina y disfunción de células beta, se dosificó a ratones MLDS/HFD ($n = 10$ /grupo) con Ab001, Ab037 o anticuerpo de control de isotipo, a 10 mg/kg IP, BIW durante seis semanas. Una semana después de la primera dosis, se observó un aumento de tres veces en la glucosa en sangre en ayunas en los ratones enfermos tratados con control de isotipo, en relación a animales normales de edad emparejada, confirmando que se había logrado un fenotipo diabético. En ese momento, se llevó a cabo una GTT, que revelaba mejoras significativas en el control glucémico tanto para Ab001 como para Ab037 ($p < 0,05$; figura 23A y 23B). La glucosa en sangre en ayunas también se redujo significativamente en el grupo de ratones tratados con Ab037 ($p < 0,05$), mientras que no se provocó un cambio significativo por Ab001 (figura 23C). Una semana después, se evaluó la glucosa alimentada. De manera similar a la glucosa en ayunas, se manifestó la enfermedad en ratones MLDS/HFD por niveles de glucosa alimentada

significativamente elevados, que se mejoró mediante A037 ($p < 0,05$; figura 24 A). De manera consistente con estas mejoras en la GTT y la glucosa alimentada/en ayunas, Ab037 redujo a HbA1c en aproximadamente un 1,5 % tras seis semanas de dosificación ($p < 0,05$; figura 24 B). El análisis de plasma al final del estudio reveló que el tratamiento con Ab037 dio lugar a una normalización estadísticamente significativa en la insulina en plasma y a una reducción más pequeña en la relación de colesterol no de HDL/HDL, mientras que Ab001 mejoró significativamente los niveles de leptina en plasma, con un impacto similar, pero más leve en la insulina en plasma ($p < 0,05$; figura 25A-C). Este modelo no presenta un cambio consistente relacionado con la enfermedad en el peso como el observado en el modelo db/db, y ni Ab001 ni Ab037 tuvieron impacto en el peso corporal en este modelo (figura 26), lo que sugiere que el aumento de peso reducido observado con estos anticuerpos en los otros modelos *in vivo* fue un efecto no específico. Estos datos demuestran que Ab037 mejora múltiples manifestaciones de enfermedad en ratones MLDS/HFD, mientras que Ab001 también corrige algunos parámetros del control glucémico impedido en este modelo.

Se evaluaron dos anticuerpos anti-INSR moduladores positivos adicionales respecto de la mejora de parámetros glucémicos *in vivo*. Se dosificó a ratones MLDS/HFD ($n = 10$ /grupo) con Ab001, Ab037, Ab083, Ab085 o anticuerpo de control de isotipo, a 10 mg/kg IP, BIW durante seis semanas. Tras 3 semanas de tratamiento, se llevó a cabo una GTT, revelando que Ab037 y Ab083 normalizaron completamente el control glucémico, en relación al control de isotipo ($p < 0,05$; figura 27 A y 27 B). La glucosa en sangre en ayunas también se redujo significativamente en ratones tratados con Ab037 o Ab083 durante la duración del estudio de 6 semanas ($p < 0,05$), mientras que no se provocó un cambio significativo por Ab001 o Ab085 (figura 28). Al final del estudio, se evaluaron los lípidos en plasma. Ab083 mejoró significativamente los triglicéridos en plasma, el colesterol no esterificado, colesterol total, el colesterol no de HDL, la relación de colesterol no de HDL/HDL y los ácidos grasos libres ($p < 0,05$; figura 29A-F). Además, Ab001 redujo significativamente el colesterol total, no de HDL y no esterificado, así como la relación de colesterol no de HDL/HDL. Ab037 mejoró el colesterol no de HDL, el colesterol no esterificado, la relación de colesterol no de HDL/HDL y los ácidos grasos libres. En este experimento, Ab085 redujo significativamente solo los ácidos grasos libres. De manera consistente con las mejoras observadas en la GTT y la glucosa en ayunas, Ab037 y Ab083 redujeron a HbA1c tras seis semanas de dosificación ($p < 0,05$; figura 30). Además, Ab001 y Ab085, que ejercieron un efecto menor en la glucosa en ayunas y la tolerancia a la glucosa, pero no mejoraron determinados parámetros lipídicos, también redujeron la HbA1c. Como en el experimento anterior, ninguno de los Acm tuvo un impacto significativo en el peso corporal en este modelo, salvo Ab085, que redujo el aumento de peso durante las 3 primeras semanas de dosificación (figura 31). Estos datos demuestran que los cuatro anticuerpos ensayados mejoran múltiples manifestaciones de enfermedad en ratones MLDS/HFD, sin tener impacto en la masa corporal en este modelo neutro de peso.

Ejemplo 16

Efectos de administración de 24 horas en anticuerpos anti-INSR agonistas parciales y moduladores positivos en la fosforilación de nros de INSR *in vivo*

El aumento en la fosforilación de tirosina de INSR en tejidos sensibles a la insulina, tales como hígado y músculo mediante administración a corto plazo de anticuerpos anti-INSR confirma que los anticuerpos están biodisponibles y son capaces de actuar de manera similar en INSR *in vivo* tal como se ha observado *in vitro*. En este experimento, los anticuerpos anti-INSR identificados como agonistas parciales o moduladores positivos *in vitro* se administraron durante 24 horas en ratones C56BL/5 macho y se evaluaron respecto de sus efectos en la fosforilación de INSR basal e inducida por insulina en hígado y músculo.

Para determinar si los agonistas parciales y moduladores positivos de INSR aumentan la fosforilación de INSR en el hígado y en músculos, se administró a ratones C56BL/6 de 10 semanas de edad ($n = 3$) anticuerpos anti-INSR o de control de isotipo (10 mg/kg) durante 24 horas, y se determinaron los efectos en el hígado y en la fosforilación de tirosina del INSR mediante ELISA en ratones a los que se había administrado un bolo de insulina (1 U/kg) o PBS durante 10 minutos. Las concentraciones de INSR fosforilado se normalizaron a las concentraciones de receptor de insulina totales y se expresaron como porcentaje.

La insulina exógena (1 U/kg) no aumentó significativamente la fosforilación de INSR en animales de control (aunque hubo una tendencia positiva) en hígado o músculo (figuras 32A, B). Sin embargo, en el hígado, se observaron aumentos significativos en la fosforilación de INSR estimulada por insulina en los ratones tratados con Ab083 y Ab037 ($p < 0,05$) así como un aumento casi significativo en los ratones tratados con Ab085 ($p = 0,07$; figura 32A). Este resultado sugiere que los anticuerpos agonistas parciales y moduladores positivos son capaces de aumentar la capacidad de respuesta a la insulina *in vivo*. Interesantemente, en el hígado, Ab083 aumentó significativamente la fosforilación de INSR incluso en su estado basal (sin insulina exógena), lo que sugiere que Ab083 es capaz de sensibilizar a la respuesta a insulina incluso en presencia de bajos niveles, en ayunas de insulina endógena.

Los efectos más pronunciados de los anticuerpos anti-INSR agonistas parciales y moduladores positivos se observaron en músculo. Mientras que los tres anticuerpos anti-INSR modularon positivamente la señalización de insulina en ratones que recibían un bolo de insulina, Ab083, y en mayor medida, Ab085, también sensibilizaron la señalización de INSR en músculo a niveles endógenos, en ayunas de insulina cuando se compararon con animales

de control (figura 32B).

Estos resultados sugieren que los anticuerpos anti-INSR tanto agonistas parciales como moduladores positivos mejoran la capacidad de respuesta a la señalización mediada por insulina en el hígado y músculo *in vivo*. En relación a los efectos de Ab037, los anticuerpos Ab083 y Ab085 sensibilizan a INSR a concentraciones de insulina relativamente bajas.

Ejemplo 17

10 Aislamiento de anticuerpos anti-INSR a partir de bibliotecas de presentación en fagos de anticuerpos adicionales

Se exploraron bibliotecas de anticuerpos no expuestos adicionales respecto de anticuerpos específicos para INSR.

15 **(1) Paneo y rescate de fagos**

El receptor de insulina humano (hINSR) (R&D Systems, Minneapolis, MN) se biotiniló tal como se describe en el ejemplo 1 y se usó para el paneo de bibliotecas de presentación en fagos de anticuerpos no expuestos adicionales.

20 *A. Biblioteca de scFv*

Biblioteca de scFv no expuesto: Para la primera ronda del paneo de fagos, se bloquearon $4,5 \times 10^{12}$ ufc de partículas de fago a partir de una biblioteca de presentación en fago de scFv lambda o $4,12 \times 10^{12}$ ufc de partículas de una biblioteca de presentación en fago de scFv kappa (XOMA LLC, Berkeley, CA) durante 1 h a temperatura ambiente (RT) en 1 ml de leche/PBS al 5 % (Teknova, Hollister, CA) con rotación suave. Esto representa dos paneos separados, scFv-kappa y scFv-lambda. Los fagos bloqueados se deseleccionaron dos veces durante 30 minutos contra perlas magnéticas recubiertas con estreptavidina Dyna-Beads® M-280 (Invitrogen Dynal AS, Oslo, Noruega). Para formar el complejo biotina-hINSR-hINS se preincubaron 103 pmol de hINSR biotinilado con insulina humana (hINS) en exceso (2.100 pmol) (Sigma, St Louis, MO) disuelta en leche/PBS al 5 %, durante 1 h a TA con rotación suave. Para la segunda ronda de paneo, se usaron 50 pmol de biotina-hINSR con 1050 pmol de hINS. Para la ronda final de paneo, se incubaron 25 pmol de biotina-hINSR con 525 pmol de hINS.

B. Biblioteca de Fab

Biblioteca de Fab no expuesto: Para la primera ronda del paneo de fagos, se bloquearon $1,2 \times 10^{13}$ ufc de partículas de fago o $1,8 \times 10^{13}$ ufc de partículas de fago de dos rescates diferentes de una biblioteca de Fab lambda (XOMA LLC, Berkeley, CA), o $7,2 \times 10^{12}$ ufc de partículas de fago o $1,8 \times 10^{13}$ ufc de partículas de fago de dos rescates diferentes de una biblioteca de Fab kappa (XOMA LLC, Berkeley, CA) durante 1 h a temperatura ambiente (TA) en 1 ml de leche/PBS al 5 % (Teknova, Hollister, CA) con rotación suave. Esto representa cuatro paneos separados. Los fagos bloqueados se deseleccionaron dos veces durante 30 minutos contra perlas magnéticas recubiertas con estreptavidina Dyna-Beads® M-280 (Invitrogen Dynal AS, Oslo, Noruega). Para formar el complejo biotina-hINSR-hINS, se preincubaron 103 pmol de hINSR biotinilado con insulina humana (hINS) en exceso (2.100 pmol) (Sigma, St. Louis, MO) disuelta en leche/PBS al 5 %, durante 1 h a TA con rotación suave. Para la segunda ronda de paneo, se usaron 50 pmol de biotina-hINSR con 1050 pmol de hINS. Para la ronda final de paneo, se incubaron 25 pmol de biotina-hINSR con 525 pmol de hINS.

La solución de biotina-hINSR/hINS se incubó con Dynabeads® M-280 magnéticas recubiertas con estreptavidina bloqueadas (Invitrogen Dynal AS, Oslo, Noruega) durante 30 minutos con rotación suave para inmovilizar el complejo biotina-hINSR-hINS. Los fagos deseleccionados se incubaron con las perlas de biotina-hINSR-hINS estreptavidina durante 2 h a TA. Para saturar el hINSR con hINS, se añadió hINS adicional (2.100 pmol) a la solución. Se lavaron las perlas. Para la primera ronda de paneo, las perlas se lavaron rápidamente (es decir, se extrajeron las perlas de la solución usando un imán y se resuspendieron en 1 ml de tampón de lavado) tres veces con leche al 0,5 %-PBS-TWEEN al 0,1 %, seguido de tres lavados con leche al 0,5 %-PBS seguido de un lavado rápido con PBS. Para la segunda ronda de paneo, las perlas se lavaron rápidamente cinco veces con leche al 0,5 %-PBS-TWEEN al 0,1 % seguido de un lavado de 5 minutos (en 1 ml de tampón de lavado a temperatura ambiente con rotación suave) con leche al 0,5 %-PBS-TWEEN al 0,1 % y después cinco lavados con leche al 0,5 %-PBS seguido de un lavado de 5 minutos con leche al 0,5 %-PBS y después un lavado rápido con PBS. Para la tercera ronda de paneo, las perlas se lavaron rápidamente cuatro veces con leche al 0,5 %-PBS-TWEEN al 0,1 %, seguido de dos lavados durante cinco minutos con leche al 0,5 %-PBS-TWEEN al 0,1 % y después cuatro lavados rápidos con leche al 0,5 %-PBS, seguido de dos lavados de 5 minutos con leche al 0,5 %-PBS y después un lavado rápido con PBS.

C. Elución y rescate

Los fagos unidos a hINSR-hINS-estreptavidina se eluyeron con 0,5 ml de trietilamina 100 mM (TEA) durante 30 minutos a TA con rotación suave. Las perlas se separaron de la parte eluida. La parte eluida se retiró y se neutralizó con 0,5 ml de Tris-HCl 1 M (pH 7,4). Las perlas se neutralizaron con 1 ml de Tris-HCl 1 M (pH 7,4). Los fagos eluidos

de las perlas o de la parte eluida se usaron por separado para infectar células bacterianas TG1 (Stratagene, La Jolla, CA) cuando alcanzaron una DO_{600} de $\sim 0,5$. Después de la infección durante 30 min a 37 °C sin agitación, y durante 30 min a 37 °C con agitación a 90 rpm, se sedimentaron las células y se resuspendieron en medio 2YT suplementado con carbenicilina 100 µg/ml y glucosa al 2 %. Las células resuspendidas se emplacaron en placas de agar 2YT con carbenicilina 100 µg/ml y glucosa al 2 % y se incubaron durante toda la noche a 30 °C.

Entonces se rescataron los fagos con fago auxiliar M13KO7 (New England Biolabs, MA) a una multiplicidad de infección (MDI) ~ 20 . Después de la infección con fago auxiliar de células TG1 a una DO_{600} de 0,5 a 37 °C durante 30 min sin agitación e incubación de 30 min a 37 °C a 100 rpm, los sedimentos celulares se resuspendieron en medio 2YT suplementado con 100 µg/ml de carbenicilina y 50 µg/ml de kanamicina y se dejaron crecer durante toda la noche a 25 °C y 250rpm. Los fagos en el sobrenadante se recuperaron después de una centrifugación rigurosa y se usaron para la siguiente ronda de paneo. Para controlar el enriquecimiento resultante de las selecciones de fagos, se tituló la cantidad de fago de entrada y salida durante las tres rondas de paneo.

(2) Exploración de FACS de clones de anticuerpo en complejo INSR humano/hINS o INSR murino/hINS

Las colonias individuales se recogieron y se cultivaron en placas de 96 pocillos y se usaron entonces para generar extractos periplásmicos bacterianos de acuerdo con métodos convencionales, con una relación de volumen 1:3 de solución de PBS enfriada en hielo (Teknova, Hollister, CA) y ddH₂O e inhibidor de proteasas (Roche, Indianápolis, IN). Los sobrenadantes de lisado se ensayaron mediante FACS en complejo hINSR/hINS o INSR murino/hINS, usando el protocolo descrito en el ejemplo 2, excepto que se usaron CHO-K1 adaptadas a suspensión transfectadas con hINSR o muINSR en lugar de células IM-9, y las células expuestas a insulina se resuspendieron en tampón de FACS suplementado con 150 nM en lugar de 70 nM de insulina humana. Este ensayo permitió la detección de al menos 6 tipos de anticuerpo:

1. Anticuerpos que solo se unen a células hINSR-CHO si se han expuesto a insulina humana (se unen exclusivamente al complejo INS/INSR de manera específica de especie)
2. Anticuerpos que solo se unen a células muINSR-CHO si se han expuesto a insulina humana (se unen exclusivamente al complejo INS/INSR de manera específica de especie)
3. Anticuerpos que solo se unen a células tanto hINSR-CHO como muINSR-CHO si se han expuesto a insulina humana (se unen exclusivamente al complejo INS/INSR de una manera con reactividad cruzada de especie)
4. Anticuerpos que solo se unen a células hINSR-CHO (se unen exclusivamente a INSR de manera específica de especie)
5. Anticuerpos que solo se unen a células muINSR-CHO (se unen exclusivamente a INSR de manera específica de especie)
6. Anticuerpos que se unen a células tanto hINSR-CHO como muINSR-CHO (se unen exclusivamente a INSR de una manera con reactividad cruzada de especie).

Se puntuó a los anticuerpos tal como se describe en el ejemplo 2. Se secuenciaron las secuencias de cadena ligera y de cadena pesada de los anticuerpos aislados y se expusieron en las SEC ID N°: 87-147 (cadena ligera) y las SEC ID N°: 223-284 (cadena pesada).

Resultados

La exploración FACS de los extractos periplásmicos bacterianos identificó múltiples anticuerpos que se unieron al receptor humano o al complejo receptor/ligando, hINSR o hINSR-hINS, o al receptor murino o al complejo receptor/ligando, muINSR o muINSR/hINS. El treinta y tres por ciento (484 de 1.488) de los clones seleccionados a partir de estas bibliotecas no expuestas fueron capaces de unirse al hINSR o al complejo hINSR-hINS. El veinticinco por ciento (370 de 1.488) de los clones seleccionados a partir de estas bibliotecas no expuestas fueron capaces de unirse al muINSR o al complejo muINSR-hINS. El dieciséis por ciento (234 de 1.488) de los clones se unieron tanto a hINSR o hINSR-hINS como a muINSR o complejos muINSR/hINS mediante FACS.

Los clones seleccionados se reformatearon en forma de anticuerpos de IgG2. Las cadenas variables pesadas (VH) y ligeras (VL) de los fragmentos de scFv seleccionados se amplificaron mediante la PCR, se clonaron en vectores de plásmido que contenían genes constantes de anticuerpo, y se transfectaron en células 293EEBNA humanas usando métodos convencionales. La unión de los anticuerpos reformateados a hINSR o a hINSR-hINS o a muINSR o a muINSR/hINS se evaluó mediante FACS, tal como se describe anteriormente. Los resultados se exponen en la figura 33.

Los resultados muestran que determinados anticuerpos reformateados se unen a INSR tanto de ratón como humano. La figura 33 también muestra que determinados anticuerpos reformateados se unen de manera diferencial

a INSR en presencia y ausencia de insulina y se predice por lo tanto que modulan la unión de insulina a INSR.

Ejemplo 18

5 Paneo respecto de anticuerpos agonistas alostéricos contra INSR

La selección de anticuerpos agonistas que muestran mayor unión al complejo de receptor/ligando que al receptor libre aumenta la probabilidad de identificar anticuerpos que no son competitivos con el ligando y que no bloquean o reducen la unión del ligando al sitio ortostérico del receptor. Un anticuerpo de este tipo, que se une a un sitio en el receptor diana distinto del sitio de unión endógeno, se conoce como un agonista alostérico (Kenakin et al., Journal of Receptors and Signal Transduction, 27:247-259, 2007; Jahns et al., J Am Coll Cardiol. 36:1280-87, 2000; May et al., Ann Rev Toxicol. 47: 1-51,2007).

Los métodos descritos anteriormente para explorar respecto de anticuerpos agonistas también son útiles para explorar respecto de agonistas alostéricos. La unión preferencial del anticuerpo de ensayo al complejo de receptor-ligando es coherente con la actividad alostérica, mientras que la unión preferencial del anticuerpo de ensayo al receptor libre es coherente con un anticuerpo que compite con la insulina por el sitio ortostérico. La exploración es útil para enriquecer el grupo de clones candidatos respecto de agonistas alostéricos eliminando algunos si no todos los agonistas competitivos.

Los anticuerpos alostéricos tienen menos probabilidades de interferir con la afinidad y la eficacia de unión del ligando y por lo tanto, tienen menos probabilidades de interferir con la señalización máxima del ligando o la sensibilidad máxima al ligando. Los anticuerpos alostéricos pueden mostrar un intervalo de agonismo, desde agonistas parciales débiles hasta niveles de agonismo similares a los del ligando endógeno. Un agonista alostérico parcial provocará una respuesta de señalización máxima que es de magnitud significativamente menor que la respuesta máxima del ligando endógeno. En algunas aplicaciones, en las que se prefiere la activación submáxima sostenida de la señal frente a la activación máxima de la señal, es preferible un anticuerpo agonista parcial frente a un anticuerpo agonista total. Las características distintivas entre un agonista alostérico parcial y un modulador positivo (sensibilizador) son evidentes a partir de una comparación de las curvas de respuesta a la dosis mostradas en las figuras 34 y 17, que muestran las diferentes curvas de unión para un anticuerpo agonista alostérico parcial (figura 34) y uno modulador positivo (sensibilizador) (figura 35).

La figura 34A ilustra un ejemplo de la respuesta a la dosis de un agonista alostérico parcial en comparación con la respuesta a la dosis al ligando endógeno y la figura 34B demuestra la activación por ligando en presencia o ausencia del agonista alostérico. La figura 35A muestra la respuesta a la dosis de un anticuerpo modulador alostérico positivo en comparación con la respuesta a la dosis al ligando endógeno mientras que la figura 35B muestra una curva de respuesta a la dosis de un ligando endógeno en presencia y ausencia de un anticuerpo modulador positivo. La figura 36 proporciona los parámetros de activación para un conjunto de agonistas alostéricos parciales en relación al ligando endógeno. Esta naturaleza de activación de señal por el agonista alostérico parcial es distinta de la de un modulador positivo obtenido mediante la misma estrategia de exploración primaria.

Un anticuerpo agonista alostérico parcial puede ofrecer una ventaja terapéutica frente a un agonista competitivo donde es beneficioso tener una activación de la señal independiente tanto por el agonista parcial como por un ligando endógeno de manera simultánea. Por ejemplo, sin pretender quedar ligados a teoría alguna, un agonista alostérico parcial puede usarse para evaluar la activación basal de una ruta de señalización mientras que aún permite la respuesta a fluctuaciones transitorias en los niveles endógenos de ligando. En determinados casos, en condiciones en las que está presente un agonista alostérico parcial de este tipo, la respuesta a la dosis de ligando endógeno mostrará un aumento en el nivel de señalización inicial (constitutivo o basal) y logrará la misma respuesta o una mayor al ligando endógeno con un cambio pequeño o no significativo en la CE_{50} del ligando. Por ejemplo, La figura 34B muestra la respuesta a la dosis de un ligando endógeno en presencia y ausencia de un agonista alostérico parcial y la figura 37 muestra la activación máxima de insulina en presencia de anticuerpos agonistas alostéricos parciales en relación a la respuesta máxima al ligando endógeno en presencia de un anticuerpo de control negativo. La figura 37 demuestra que los anticuerpos agonistas alostéricos parciales Ab037 y Ab040 tienen un impacto pequeño o no significativo en la CE_{50} de la respuesta a la dosis y la fosforilación máxima de Akt en Ser473 por insulina cuando se compara con un anticuerpo de control negativo en el mismo ensayo.

Ejemplo 19

60 Ejemplos de clases funcionales de anticuerpos anti-INSR: efectos diferenciales en la fosforilación de Akt inducida por insulina

Se midieron los efectos de los anticuerpos de ensayo en la señalización a través del complejo insulina/receptor de insulina evaluando la capacidad de los anticuerpos para sensibilizar y agonizar la fosforilación de Akt inducida por insulina. Los ensayos se llevaron a cabo usando el método descrito en el ejemplo 5. En todos los datos mostrados, los valores de pSer473 de pAkt porcentuales son relativos y no representan necesariamente niveles celulares absolutos de pSer473 de pAkt.

Las figuras 38-40 muestran curvas de respuesta a la dosis de anticuerpo de pAkt en ausencia de insulina o en presencia de una concentración submáxima de insulina para células CHO-K1 progenitoras, células CHO-K1 que expresan receptor de insulina humano y células CHO-K1 que expresan receptor de insulina de ratón. Las titulaciones de anticuerpos en ausencia de insulina (símbolos vacíos) proporcionan una indicación de actividad agonista de anticuerpo. La titulación en paralelo de anticuerpos en presencia de un nivel submáximo de insulina (símbolos rellenos) proporciona una indicación de la actividad sensibilizante en relación a la actividad agonista. La actividad sensibilizante puede observarse como un aumento en los niveles de pAkt por encima del causado por una concentración de CE_{30} de insulina (línea discontinua) que es mayor en magnitud que la de la actividad agonista a la misma concentración de anticuerpo. Los anticuerpos Ab077, Ab078 y Ab085 (figura 38A-C) no muestran agonismo significativo en ausencia de insulina. Los anticuerpos Ab001, Ab079 y Ab083 son agonistas débiles (figura 39A-C) y el anticuerpo Ab080 muestra un nivel moderado de agonismo (figura 40). Los resultados del ensayo también indican si los anticuerpos muestran reactividad cruzada funcional, es decir, tienen efectos en la señalización mediada por INSR tanto humano como de ratón. Nótese que los anticuerpos Ab078 y Ab085 solo se unen al receptor de insulina en presencia de insulina, es decir, no se unen de manera detectable al receptor de insulina desocupado, según se evalúa mediante la unión al receptor de insulina expresado en células CHO-K1 en un ensayo basado en FACS.

La figura 41A-C muestra la activación de pAkt inducida por insulina en presencia de concentraciones fijas de anticuerpos sensibilizantes en comparación con insulina en presencia de anticuerpo de control de isotipo de IgG2 anti-KLH (líneas continuas). Los niveles de activación de pAkt para anticuerpos en ausencia de insulina a las concentraciones usadas en las titulaciones de respuesta a la dosis de insulina se muestran como líneas discontinuas. Los valores de CE_{50} para la activación de insulina inducida por pAkt en presencia de los anticuerpos sensibilizantes y el cambio múltiplo en los valores de CE_{50} en relación al control de isotipo se listan en la tabla 5.

Tabla 5. Valores de CE_{50} para la activación de pAkt inducida por insulina en presencia de anticuerpos sensibilizantes.

<i>Experimento</i>	<i>Anticuerpo</i>	<i>Concentración de anticuerpo ($\mu\text{g/ml}$)</i>	<i>EC_{50} (pM)</i>	<i>Cambio múltiplo en la CE_{50} en relación al control de isotipo</i>
Células CHO-K1 INSR humano	Ab001	2	59	12
	Ab077	10	81	9
	Ab078	20	221	3
	Ab079	10	100	7
	Ab083	2	68	11
	Ab085	1	207	3
	Ab085	10	81	9
	anti-KLH.G2	10	724	
Células CHO-KL INSR de ratón	Ab001	2	354	7
	Ab077	20	301	8
	Ab078	20	990	2
	Ab079	20	300	8
	Ab083	10	276	9
	Ab085	20	312	8
	anti-KLH.G2	10	2414	

Las figuras 42A-B muestran la actividad de activación de pAkt de anticuerpos agonistas parciales alostéricos en ausencia de insulina en comparación con solo insulina. Los anticuerpos Ab037, Ab053 y Ab062 actúan como agonistas de la actividad de pAkt teniendo picos de activación máxima que son significativamente menores que con insulina en células CHO-K1 que expresa el receptor de insulina ya sea humano o de ratón. Los resultados del ensayo también indican si los anticuerpos muestran reactividad cruzada funcional, es decir, si tienen efectos en la señalización mediada por receptor de insulina tanto humano como de ratón. Los valores de CE_{50} y los niveles de activación máxima se proporcionan en la tabla 6.

Tabla 6. Niveles de activación máxima y valores de CE_{50} para agonistas alostéricos parciales

		Insulina humana	Ab037	Ab053	Ab062
CHO-K1 INSR humano	Activación máxima relativa	100 %	79 %	64 %	52 %
	CE_{50} (nM)	0,15	0,65	0,42	2,43
CHO-K1 INSR de ratón	Activación máxima relativa	100 %	42 %	48 %	34 %
	CE_{50} (nM)	1,70	1,42	0,69	1,10

La figura 43 muestra la activación de pAkt dependiente de insulina en presencia de concentraciones fijas de anticuerpos agonistas alostéricos parciales en comparación con solo insulina. La actividad agonista de los

anticuerpos se observa como un aumento en el valor inicial de la respuesta a la dosis de insulina. Los anticuerpos agonistas Ab037 y Ab053 tienen poco efecto en la sensibilidad a la insulina que se refleja en la ausencia de cambio significativo en la CE_{50} de insulina y en el coeficiente de Hill en presencia de estos anticuerpos (véase la tabla 7). El anticuerpo Ab062 parece reducir la sensibilidad a la insulina ya que la CE_{50} para insulina en presencia de Ab062 es 6,6 veces mayor (véase la tabla 7).

Tabla 7. Parámetros de activación de insulina en presencia y ausencia de anticuerpos agonistas

<i>Línea celular con receptor de insulina modificado por ingeniería genética usada en el ensayo</i>	<i>Parámetro de ensayo determinado a partir de ajuste de curva de respuesta a dosis sigmoidal</i>	<i>Insulina hu con 2 µg/ml de anticuerpo de control (intervalo de confianza del 95 %)</i>	<i>Insulina hu con 2 µg/ml de Ab037 (intervalo de confianza del 95 %)</i>	<i>Insulina hu con 2 µg/ml de Ab053 (intervalo de confianza del 95 %)</i>	<i>Insulina hu con 2 µg/ml de Ab062 (intervalo de confianza del 95 %)</i>
<i>CHO-K1 INSR humano</i>	Activación máxima relativa de pAkt en presencia de 2 µg/ml de anticuerpo	100 % (93 % a 108 %)	109 % (106 % a 112 %)	99 % (97 % a 102 %)	106 % (100 % a 112 %)
	CE_{50} de insulina en presencia de 2 µg/ml de anticuerpo (nM)	0,58 (0,35 a 0,96)	1,11 (0,84 a 1,5)	0,92 (0,68 a 1,3)	3,91 (2,7 a 5,7)
	Coef. de Hill de insulina en presencia de 2 µg/ml de anticuerpo (nM)	0,74 (0,48 a 1,0)	0,79 (0,63 a 0,95)	0,93 (0,69 a 1,2)	0,71 (0,54 a 0,89)

Ejemplo 20

El anticuerpo anti-INSR 83-7 no es un modulador positivo de la unión de insulina a hINSR

El anticuerpo anti-INSR 83-7 se ha identificado anteriormente como específico para el receptor de insulina humana, sin embargo, no se ha demostrado que el anticuerpo 83-7 tenga cualquier capacidad moduladora en la unión insulina-receptor de insulina. Para evaluar la capacidad del anticuerpo 83-7 para modular cinéticamente las interacciones insulina-receptor de insulina, se midió la fosforilación de serina inducida por insulina de AKT en presencia de 83-7.

Se sintetizaron las secuencias de VH y VL que codifican el anticuerpo 83-7 (McKern et al., Nature 443: 218-221, 2006) y se expresó el anticuerpo (IgG1, cadena ligera lambda) de manera transitoria en células HEK293 EBNA. El anticuerpo se purificó usando captura de proteína A y cromatografía de exclusión por tamaño. Se midió la capacidad del anticuerpo 83-7 para aumentar la fosforilación de serina inducida por insulina de AKT usando el método descrito en el ejemplo 5. La figura 44 muestra los resultados de un ensayo de pAKT para 83-7 y Ab001 en células CHOK1 que expresan: (A) INSR humano, o; (B) INSR de ratón. El anticuerpo 83-7 no moduló positivamente la señalización de INSR dependiente de insulina, mostrando únicamente actividad agonista en INSR humano y no mostró agonismo en INSR de ratón. Por el contrario, Ab001 moduló positivamente la señalización de INSR dependiente de insulina en aproximadamente 10 veces tanto en INSR humano como en INSR de ratón.

Ejemplo 21

Ensayo para medir la modulación de la afinidad de unión de insulina por INSR mediante anticuerpos anti-INSR

Para evaluar la capacidad de los anticuerpos moduladores para afectar a la unión de insulina al receptor de insulina, se midió la afinidad de unión de insulina no modificada a INSR humano expresado en la superficie de células CHOK1 privadas de suero (hINSR8-CHOK1) en presencia y ausencia de anticuerpos monoclonales para INSR. Se desarrolló un ensayo KinExA para medir niveles muy bajos de insulina en medio de cultivo celular. Este ensayo permitió medir la unión de insulina a células que expresaban INSR determinando el nivel de eliminación de insulina del medio de cultivo celular. A medida que la insulina quedaba unida a las células, la concentración de insulina en el medio de cultivo celular disminuía. Al usar una titulación de células que expresan INSR y midiendo el porcentaje de insulina libre, pudo estimarse la afinidad de la interacción INS-INSR usando el programa informático KinExA. Se usó este ensayo para medir el grado de modulación de la actividad de unión de insulina mostrada por diversos anticuerpos anti-INSR.

Se privó de suero a células hINSR8-CHOK1 durante toda una noche y después se prepararon para el ensayo precipitando las células y resuspendiéndolas a una concentración de 2X la concentración de ensayo final para las

diluciones mayores (entre $3,5 \times 10^7$ y $2,0 \times 10^7$ células/ml en dilución de tampón de ensayo de PBS (Teknova, Hollister, CA) con 500 mg/ml de BSA y azida de sodio al 0,1 % (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO)). Se preparó una dilución en serie de factor dos creando una serie de diluciones de diez puntos y también se usó un control sin células. Las suspensiones de células se alicuotaron en tubos de ensayo de polipropileno de 2 ml de volumen cada uno. A estas suspensiones se les añadió 1 ml de 40 µg/ml de anticuerpo de ensayo (o 100 µg/ml para Ab078) a cada tubo, se mezclaron cuidadosamente y se incubaron durante 30-45 minutos sobre hielo. Los anticuerpos usados se ensayaron en comparación con el anticuerpo anti-KLH de IgG2 humano de control negativo. Se añadió 1 ml de insulina 200 pM a cada tubo para establecer una concentración de insulina final de 50 pM (300 pg/ml) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO). Las muestras se incubaron durante toda la noche a 4 °C durante 18 horas. Después se centrifugaron para precipitar las células y se retiraron los sobrenadantes para ensayarlos.

El análisis KinExA 3000 se llevó a cabo usando perlas recubiertas con un anticuerpo monoclonal anti-insulina. se suspendieron 2 gramos de perlas de poli(metil metacrilato) (PMMA) (Sapidyne, Boise, ID) en 9 ml de tampón de ensayo de PBS que contenía 65 µg/ml de anticuerpo monoclonal anti-insulina de ratón clon D6C4 (Fitzgerald Industries, Acton MA). Las perlas se rotaron a temperatura ambiente durante 6 horas y después se dejaron reposar. El sobrenadante se reemplazó por FBS con 50 mg/ml de Fracción V de BSA (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) y se rotaron durante toda la noche a 4 °C. La solución de detección usada fue el clon D3E7 anti-insulina de ratón biotinilado (Fitzgerald Industries, Acton MA) a 0,15 mg/ml en tampón de dilución de ensayo con estreptavidina-PE a 1 µg/ml (Invitrogen, Carlsbad, CA). En el dispositivo KinExA 3000 se inyectó la muestra a 0,25 ml/minuto durante 240 segundos, después se enjuagó durante 60 segundos en tampón de ejecución (PBS con azida de sodio al 0,05 %), después se inyectó la solución de detección durante 240 segundos, seguido de un lavado final de 90 segundos a 1 ml/minuto. Se midió la diferencia de voltaje desde un instante inicial temprano y un instante próximo al final de la ejecución y se usó para calcular las afinidades. La concentración de INSR en las células se estimó a $2,5 \times 10^5$ receptores/célula. La afinidad se determinó usando el programa informático KinExA (Sapidyne, Boise ID) y se calcularon las CE_{50} mediante ajuste no lineal en Prism (GraphPad Software, La Jolla CA).

Una serie de anticuerpos anti-INSR potenció la afinidad de la insulina por las células. Otros anticuerpos no tuvieron efecto en la afinidad de insulina por las células (tabla 8). Uno de los anticuerpos ensayados redujo la afinidad de la insulina por las células en aproximadamente tres veces. La figura 45 muestra el porcentaje de insulina libre representado contra la concentración estimada de receptor de insulina. El nivel de insulina se fijó a 50 pM y la concentración de anticuerpo fue de 10 µg/ml (67 nM) para todos los clones excepto para Ab078 que se ensayó a 25 µg/ml (167 nM). Las curvas mostradas son ajustes Prism de regresión no lineal usados para calcular la CE_{50} .

La figura 46 muestra el porcentaje de insulina libre representado contra la concentración estimada de receptor de insulina. El nivel de insulina se fijó a 50 pM y la concentración de anticuerpo fue de 10 µg/ml (67 nM) para todos los clones. Las curvas mostradas son ajustes Prism de regresión no lineal usados para calcular la CE_{50} .

Tabla 8

Tabla de afinidad y CI_{50} de insulina			
Anticuerpo	Kd (pM)	CE_{50} (pM)	Cambio múltiplo en afinidad
IgG2-KLH	272	365	1,0
Ab037	271	471	1,0
Ab001	49	104	+5,6
Ab053	228	33	+1.
Ab062	762	760	22,8
Ab078	41	80	+ 6.6
Ab079	12,1	40	+22,5
Ab080	11,2	34	+24,3
Ab083	13,7	39	+19,9
Ab085	34	70	+ 8.0

Ejemplo 22

Ensayo para medir la proliferación mediada por insulina, IGF-1 e IGF-2 de células MCF-7 en presencia o ausencia de anticuerpos anti-INSR

La insulina, IGF-1, e IGF-2 promueven la mitogénesis en células de adenocarcinoma mamario humano MCF-7. Estudios previos habían demostrado que los análogos de insulina promueven la señalización mitogénica además de la señalización metabólica después de la unión a INSR. Se esperó que los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos y agonistas descritos en el presente documento promuevan la señalización mitogénica mediada por INSR en paralelo a su activación de la señalización metabólica mediada por INSR. Los efectos de los anticuerpos moduladores en los estímulos mitogénicos mediados por insulina se midieron usando células MCF-7 que expresaban los receptores.

Se cultivaron células MCF-7 en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) que contenía glucosa a 4,5 g/l suplementado con FBS al 10 % y glutamina 2 mM (Invitrogen) para el mantenimiento normal. Para el ensayo de proliferación, se sembraron las células en placas de microtitulación opacas de 96 pocillos a una densidad de 1×10^4 células/pocillo (Costar 3917) y se las dejó volver a adherirse durante 24 horas. Después de 24 horas, se lavaron las células 2x con PBS precalentado y se incubaron en DMEM que contenía glucosa a 1 g/l y sin rojo fenol suplementado con FBS al 0,1 % y glutamina 2 mM (Invitrogen), lo que se citará como "medio de ayuno", durante otras 24 horas. La insulina (Sigma), IGF-1 (R&D Systems), e IGF-2 (R&D Systems) se prepararon como soluciones madre 10x en medio de ayuno y se diluyeron en serie 5 veces partiendo de 1 μ M hasta 64 nM (6 diluciones), y se añadieron a las células después del periodo de 24 horas de privación. Para los experimentos de incubación conjunta que incluyen los anticuerpos anti-INSR junto con el factor de crecimiento, se preparó una solución madre de 50 μ g/ml de cada anticuerpo en medio de ayuno y se añadió a las células antes de la adición de factor de crecimiento a una concentración final de 5 μ g/ml. Las células se incubaron a 37 °C durante 48 horas y se midió la proliferación celular usando el ensayo de viabilidad celular luminiscente CellTiter-Glo (Promega). Los resultados se muestran en la tabla 9.

Tabla 9: Resultados de proliferación de MCF-7

	Valores de CE ₅₀ y de intervalo de confianza al 95 %					
	Insulina (nM)		IGF-1 (nM)		IGF-2 (nM)	
	CE ₅₀	IC del 95 %	CE ₅₀	IC del 95 %	CE ₅₀	IC del 95 %
Sin anticuerpo	0,80	0,48 - 1,33	1,73	1,07 - 2,80	1,30	0,80 - 2,11
KLH*	1,54	1,03 - 2,29	2,10	1,33 - 3,30	2,66	1,75 - 4,06
Ab001*	3,46	2,22 - 5,40	4,71	3,28 - 6,75	2,54	1,87 - 3,43
Ab037*	1,54	1,00 - 2,37	2,33	1,51 - 3,58	2,09	1,44 - 3,05
Ab083*	1,08	0,49 - 2,38	0,91	0,58 - 1,43	1,47	0,77 - 2,81
Ab085*	0,48	0,28 - 0,81	2,11	1,38 - 3,21	1,84	1,30 - 2,60

* concentración de anticuerpo a 5 μ g/ml

Estos resultados demuestran que, de manera sorprendente, en presencia de anticuerpos anti-INSR, no se observaron cambios significativos en las respuestas mitogénicas para cualquiera de los factores de crecimiento anteriormente mencionados dentro de un intervalo de confianza del 95 %. Es posible que estos anticuerpos puedan reaccionar de manera cruzada y unirse débilmente a IGF-1 e IGF-2, pero el ensayo anterior demuestra que cualquier unión de reactividad cruzada posible no provoque un efecto funcional, es decir, no promueve la señalización a través del receptor. Esto sugiere que los anticuerpos son capaces de aumentar la relación de señalización mediada por INSR de metabólica a mitogénica.

Ejemplo 23

Los efectos de los anticuerpos anti-INSR para revertir la captación de ácidos grasos en adipocitos 3T3-L1 diferenciados resistentes a insulina

El TNF α puede inhibir la captación de ácidos grasos dependiente de insulina. Ya que se sabe que el TNF α provoca resistencia a la insulina mediante la desactivación de intermedios de la ruta de señalización de insulina tales como IRS-1 (Nguyen et al, J. Biol. Chem. 280(42): 35361-71, 2005; Luca y Olefsky, FEBS Let. 582: 97-105, 2008) que también forman parte de la ruta de captación de glucosa dependiente de insulina, la reversión de la inhibición por TNF α de la captación de ácidos grasos dependiente de insulina por anticuerpos anti-INSR es indicativa de la capacidad de estos anticuerpos para revertir la inhibición la captación de glucosa dependiente de insulina mediada por TNF α .

Los fibroblastos embrionarios de ratón 3T3-L1 pueden inducirse para que se diferencien en adipocitos, tras lo cual se vuelven altamente respondedores a la captación de ácidos grasos mediada por insulina. La alimentación rica en grasas se ha establecido como causa de la resistencia a la insulina por tejido adiposo. Para examinar esta afección *in vitro*, los adipocitos 3T3-L1 se han tratado con ácidos grasos libres (FFA), lo que da como resultado una transducción de señales mediada por receptor de insulina impedida y en última instancia a una reducción en la captación de glucosa estimulada por insulina. Una de las moléculas efectoras aguas abajo inducidas por tratamiento de FFA que contribuye a la resistencia a la insulina es el TNF α . También se ha demostrado que el TNF α inhibe la captación de ácidos grasos mediada por insulina y proporciona un sistema *in vitro* bien definido para evaluar si los anticuerpos anti-INSR pueden revertir el transporte de ácidos grasos resistente a la insulina.

Se cultivaron células 3T3-L1 en medio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) que contenía glucosa a 4,5 g/l suplementado con suero de ternero neonato al 10 % (NCS; Invitrogen) y glutamina 2 mM (Invitrogen) para el mantenimiento normal. Para diferenciar las células en adipocitos en placas de microtitulación de 96 pocillos, se usó el siguiente protocolo: (1) en el día -5, se sembraron 2×10^3 células por pocillo en una placa de 96 pocillos negra/fondo transparente (BD Falcon 353948), (2) en el día -2, las células alcanzan la confluencia y se dejan reposar durante 2 días adicionales, (3) en el día 0 se añade el medio de diferenciación, (4) en el día 3, se cambia el medio a

medio de crecimiento normal que contiene 0,425 μ M de insulina, (5) en el día 7 se cambia el medio a medio de crecimiento normal. Para inducir la resistencia a la insulina, se prepararon soluciones madre 10x de TNF α (R&D Systems) en medio de crecimiento normal y se añadieron a las células en el día 9 del proceso de diferenciación. Las concentraciones de trabajo de TNF α usadas fueron de entre 1-10 ng/ml. La captación de ácidos grasos se ejecutó en células en el día 10. El protocolo de captación de ácidos grasos usado fue el siguiente. Se lavaron las células en Solución salina equilibrada de Hank 2x (HBSS; Invitrogen) que contenía BSA sin ácidos grasos al 0,2 % (FAF-BSA; Sigma) y HEPES 20 mM (Invitrogen), y después se las privó de suero en HBSS durante 1-2 horas a 37 °C. Se añadieron anticuerpos anti-INSR u otros controles relevantes a partir de una solución madre 10x o solo HBSS y se incubaron a 37 °C durante 30 minutos, y se añadió insulina a diluciones a partir de una solución madre 10x y se incubaron a 37 °C durante 30 minutos. Entonces se añadió un volumen igual de tampón de carga del ensayo de captación de ácidos grasos QBT (Molecular Devices) reconstituido y se incubó a 37 °C durante hasta 3 horas, y las placas se leyeron en un lector de placas fluorescente para medir los análogos de ácidos grasos fluorescentes internalizados.

La figura 47 muestra que el TNF α induce la desensibilización de la captación de ácidos grasos mediada por insulina en adipocitos 3T3-L1 en presencia del anticuerpo anti-INSR Ab085. La tabla 10 muestra la CE₅₀ relativa para los anticuerpos para la captación de ácidos grasos, demostrando que Ab085 disminuye la CE₅₀ para la captación de ácidos grasos. En presencia del anticuerpo anti-INSR Ab085, la desensibilización inducida por TNF α de la captación de ácidos grasos mediada por insulina se revirtió completamente a los valores de control no tratados. Se observaron resultados similares para Ab083.

Tabla 10

	Valores de CE ₅₀ y de intervalo de confianza al 95 %	
	Insulina (nM)	
	EC ₅₀	IC del 95 %
Solo insulina	0,77	0,37 - 1,60
+ TNF α	2,89	1,37 - 6,08
+ TNF α , + anti-KLH	3,39	1,42 - 8,11
+ TNF α , + Ab085	0,32	0,14 - 0,75
Concentración de TNF α a 1,25 ng/ml		
Concentración de Ab085 a 50 μ g/ml		

Estos resultados demuestran que el anticuerpo modulador positivo puede aumentar la captación de ácidos grasos en adipocitos, lo que sugiere que el anticuerpo es útil para tratar un trastorno o afección que podría beneficiarse del aumento de la captación de ácidos grasos.

Ejemplo 24

Caracterización de anticuerpos anti-INSR altamente purificados mediante activación de pAkt dependiente de insulina

Se percibió una cierta cantidad de variación de ensayo a ensayo en los ensayos de pIRS-1 y de pAKT funcionales. Se determinó que esta variación podría reducirse cuando los anticuerpos de ensayo se purificaron usando una etapa adicional además de la purificación de proteína A, por ejemplo, cromatografía de exclusión por tamaño, dando como resultado anticuerpos que fueron puros en aproximadamente > 95 %. Esta etapa de purificación redujo o eliminó los agregados y factores de crecimiento contaminantes que se creía que interferían con el ensayo funcional.

Se ensayó una serie de anticuerpos anti-INSR altamente purificados en el ensayo de pAKT descrito en el ejemplo 5, usando células CHOK1 que expresaban el INSR humano o el INSR de ratón. Además, se ensayaron determinados anticuerpos anti-INSR respecto de la actividad en una línea celular de CHOK1 transfectada con INSR de mono cinomolgo (CHOK1-cynoINSR-4).

Los efectos de los anticuerpos anti-INSR moduladores positivos Ab001, Ab037, Ab077, Ab079, Ab080, Ab083 se midieron en el ensayo pAKT y los resultados se muestran en la figura 48 (INSR humano) y en la figura 49 (INSR de ratón).

El % de pAKT relativo de los anticuerpos agonistas Ab037, Ab030, Ab053 y Ab062 en INSR humano e INSR de ratón se muestran en las figuras 50 y 51, respectivamente.

También se midió el % de pAKT relativo de los anticuerpos moduladores positivos y de los anticuerpos agonistas en células CHOK1 que expresaban INSR4 de mono cinomolgo. La figura 52 demuestra que los anticuerpos anti-INSR Ab030, Ab037, Ab053, Ab001, Ab079, Ab080 y Ab083 son capaces de inducir la fosforilación de AKT después de la activación de INSR de mono.

Adicionalmente, el % de pAKT relativo de los anticuerpos moduladores negativos Ab061, Ab070 y Ab081 se midió también en células CHOK1 que expresan INSR humano. Los resultados se muestran en la tabla 11 y en la figura 53.

Tabla 11

	10 µg/ml Ab061	20 µg/ml Ab070	20 µg/ml Ab081	20 µg/ml Acm control de isotipo
CE ₅₀ de insulina	32,43	2,09	4,53	0,12
Cambio múltiplo en la CE ₅₀ en relación al Acm de control de isotipo	269	17	38	
Intervalos de confianza al 95 % de CE ₅₀	14,36 a 73,25	1,686 a 2,598	3,503 a 5,843	0,09691 a 0,1496

Estos resultados demuestran que los anticuerpos moduladores negativos aumentan la CE₅₀ de insulina, en algunos casos varios cientos de veces.

Ejemplo 25

Evaluación de la reactividad cruzada entre especies de anticuerpos anti-INSR

Este ejemplo describe el uso de un ensayo basado en FACS para evaluar la unión de anticuerpos para el receptor de insulina a células de especies, tales como conejo y mono cinomolgo que a menudo se usan en estudios toxicológicos. Se exploraron anticuerpos anti-INSR a partir de bibliotecas de presentación en fagos tanto para unión a monocitos de sangre periférica de seres humanos, conejo y monos cinomolgos y para la unión diferencial en presencia o ausencia del ligando (insulina) a los monocitos de las especies nombradas anteriormente.

Se obtuvo sangre completa de mono cinomolgo del California National Primate Research Center (Davis, CA) y la sangre completa de conejo se obtuvo de LifeSource Biomedical, LLC (Moffet Field, CA). Se purificaron PBMC humanos usando Ficoll Hypaque de capas leucocitarias obtenidas de la Cruz Roja americana. Los PBMC de cinomolgo y de conejo se purificaron entonces usando gradientes de Ficoll Hypaque (Pharmacia). Los PBMC purificados se congelaron y almacenaron en nitrógeno líquido antes de su uso en el ensayo. Se descongelaron PBMC humanos, de cinomolgo y de conejo y se lavaron con tampón FACS (BSA al 0,5 % y NaN₃ al 0,1 % en PBS). Una vez se habían preparado las células, se usaron en el ensayo de tinción de FACS a una concentración final de 2 x 10⁶ células/ml.

Para observar la unión diferencial, se incubaron las células en presencia o ausencia de insulina con concentraciones decrecientes de anticuerpo anti-INSR a 4 °C durante 1 hora y se lavaron una vez con tampón de FACS. La unión del anticuerpo anti-INSR se reveló mediante la adición de IgG anti-humano Alexa647 (Jackson ImmunoResearch) durante 30 minutos a 4 °C. Después de lavar dos veces con tampón de FACS, se tiñeron las células con diversos marcadores para capturar la población de monocitos. Se tiñeron las células humanas y de cinomolgos con CD45 y CD14. Se tiñeron las células de conejo con CD11b y CD14. Los anticuerpos se incubaron entonces durante 20 minutos y se lavaron dos veces con tampón de FACS. Entonces se fijaron las células con paraformaldehído al 2 % y se añadió un volumen igual de tampón de FACS antes del análisis de las células. Las células se analizaron en un FACScan™ (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ) y los datos se analizaron usando tanto FloJo™ (Tristar, Paso Robles, CA) y GraphPad Prism 5 (GraphPad Software, La Jolla, CA).

La unión observada en PBMC humanos, de conejo o de mono cinomolgo se confirmó generando líneas celulares de CHO que expresaban el receptor de insulina de la especie adecuada y repitiendo el ensayo de unión descrito anteriormente. Los datos mostrados en la figura 54 muestran que muchos de los anticuerpos que se unieron al receptor de insulina humano también se unieron al receptor de insulina de conejo y de cinomolgo y que esta unión se moduló por la presencia de insulina.

Ejemplo 26

Medición de la afinidad de anticuerpos anti-INSR en presencia y ausencia de insulina humana

Se midió la afinidad de varios anticuerpos anti-INSR por INSR humano recombinante expresado en la superficie de células CHOK1 privadas de suero (hINSR8-CHOK1) en presencia y ausencia de insulina. Se desarrolló un ensayo KinExA para medir niveles muy bajos de anticuerpo en un tampón de incubación. Este ensayo permitió medir la unión de anticuerpos a células que expresan INSR determinando el nivel de eliminación de anticuerpo del tampón de incubación. A medida que el anticuerpo quedó unido a las células, se redujo la concentración de anticuerpo en la solución de tampón. Al usar una titulación de células que expresan INSR y midiendo el porcentaje de anticuerpo libre, pudo estimarse la afinidad de la interacción anticuerpo a INSR usando el programa informático KinExA. Este ensayo se usó para determinar las afinidades relativas de los clones de anticuerpo ensayados en presencia o ausencia de insulina y se demostró la modulación dependiente de insulina de la unión de anticuerpo a las células.

- Se privó de suero a células hINSR8-CHOK1 durante toda la noche y después se prepararon para el ensayo tal como se describe en el ejemplo 20. Se añadió un ml de insulina a 4 µg/ml o tampón a cada tubo de células para establecer una concentración final de insulina de 0 o 175 nM (1 µg/ml). Después se añadió 1 ml de anticuerpo a 40 ng/ml a cada tubo para dar una concentración final de anticuerpo de 10 ng/ml o 66,6 pM. Las muestras se incubaron durante toda la noche a 4 °C durante 18 horas. Después se centrifugaron para precipitar las células y se retiraron los sobrenadantes para ensayarlos en el KinExA. El análisis de KinExA 3000 se llevó a cabo tal como se describe en el ejemplo 20 usando perlas recubiertas con un fragmento F(ab')₂ de cabra anti-IgG humana (H+L) (Jackson Immuno Research, West Grove PA). La solución de detección usada fue R-PE-fragmento F(ab')₂ de cabra anti-IgG humana (H+L) (Jackson Immuno Research, West Grove PA). Para el anticuerpo murino 83-7 se conjugaron las perlas como en el caso anterior con un anticuerpo F(ab')₂ de conejo anti-ratón (Jackson Immuno Research, West Grove, PA) y la solución de detección usada fue R-PE-fragmento F(ab')₂ de cabra anti-IgG de ratón (H+L) (Jackson Immuno Research). La concentración de INSR en las células se estimó a 2,5 x 10⁵ receptores/célula y se supuso la unión de anticuerpo bivalente a INSR.
- Las afinidades de una serie de anticuerpos anti-INSR en presencia y ausencia de insulina se muestran en la tabla 12. Los anticuerpos agonistas Ab037, Ab053, y Ab062 tienen unión que es independiente de insulina y mostraron un cambio de afinidad menor de dos veces en presencia o ausencia de insulina. El anticuerpo 83-7 tuvo un cambio de afinidad modesto de tres veces en presencia de insulina, mientras que los anticuerpos moduladores positivos Ab001, Ab079, Ab080, y Ab083 mostraron todos modulación de unión positiva en presencia de insulina en el intervalo desde diecisiete veces para Ab080 a más de 100 veces para Ab001. Los moduladores positivos Ab077 y Ab078 tienen una afinidad más débil en ausencia de insulina que los otros clones y, como resultado, su afinidad "sin insulina" fue más allá del intervalo del ensayo, que está limitado en la concentración máxima de receptor dado el uso de las células como fuente de receptor. Aunque puede observarse la unión con estos clones en ausencia de insulina, es sustancialmente más débil que en presencia de insulina y se modula en mayor medida que 83-7, pero el grado de modulación no puede estimarse de manera precisa con estas condiciones de ensayo. Ab085 mostró poca o ninguna evidencia de unión en ausencia de insulina y su unión se considera insulino dependiente.

Tabla 12

Afinidad de anticuerpos a células hINSR8-CHOK1			
AcM	Con insulina	Sin insulina	Múltiplo de mejora con insulina
Ab001	1.16E-10	1.20E-08	103
Ab037	8.00E-11	1.08E-10	1,4
Ab053	9.60E-11	1.48E-10	1,5
Ab062	1.08E-10	1.24E-10	1,1
Ab077	6.40E-09	Fuera de intervalo*	
Ab078	3.40E-10	Fuera de intervalo*	
Ab079	4.96E-10	9.60E-09	19,4
Ab080	6.80E-10	1.20E-08	17,6
Ab083	3.76E-10	7.60E-09	20,2
Ab085	2.00E-10	Sin unión	
83-7	1.60E-10	4.80E-10	3,0

30 Ejemplo 27

Agrupamiento de epítomos de anticuerpos anti-INSR

- Se adoptó una estrategia multifactorial para el agrupamiento de epítomos para determinar si varios anticuerpos anti-INSR se unen a epítomos potencialmente similares o si han demostrado propiedades de unión diferencial y diferente reconocimiento de epítomos. Se llevaron a cabo experimentos de unión competitiva o de "agrupamiento" así como el análisis de la capacidad de los anticuerpos para unirse a diferentes especies humanas y murinas de receptor de insulina y su capacidad para unirse en presencia y ausencia de insulina. Todos estos son factores para determinar la similitud o diferencia potencial de epítomos de unión de anticuerpo. Se llevaron a cabo ensayos de citometría de flujo analizando la unión de IgG biotiniladas a células hINSR8-CHOK1 y células mINSR-CHOK1 privadas de suero en presencia y ausencia de insulina.

- Para el ensayo de unión competitiva, se privó de suero a células hINSR8-CHOK1 y a células mINSR-CHOK1 durante toda la noche y después se prepararon para el ensayo tal como se describe en el ejemplo 20. En algunas realizaciones, es útil calcular el número de receptores sobre la superficie celular para llevar a cabo ensayos de unión competitiva. Por ejemplo, se determinaron los niveles de expresión de receptor de hINSR8-CHOK1 inicialmente mediante tinción celular convencional y técnicas de citometría de flujo. En resumen, este ensayo se llevó a cabo tiñendo las células con una concentración saturante de Ac monoclonal MA-20 (ThermoFisher Scientific, Waltham, MA) y detección con anticuerpo de cabra anti-IgG de ratón conjugado a R-ficoeritrina (Jackson Immuno Research,

West Grove, PA) y después comparando la fluorescencia relativa con perlas de PE de BD Quantibrite™ (BD Biosciences, Franklin Lakes, NJ) para proporcionar una estimación del número de moléculas de ficoeritrina unidas y extrapolar el número de receptores de insulina basándose en el número de moléculas de ficoeritrina unidas. Este número se ensayó entonces adicionalmente y se refinó usando KinExA, tal como se describe en Rathanaswami et al, (Analytical Biochemistry 373:52-60, 2008). En resumen, Los experimentos KinExA se llevaron a cabo observando la unión tanto de anticuerpo como de insulina, donde la concentración de ligando usada fue mucho mayor que la descrita en el presente documento para la determinación de afinidades, lo que crea una respuesta a la dosis más limitada estequiométricamente. Esto se analizó entonces con el programa informático KinExA (Sapidyne, Boise, ID) usando un modelo de ligando desconocido y determinación de un parámetro multiplicador de ligando que se usó para confirmar la concentración de receptor de unión. En el presente ensayo, por ejemplo, se estima que las células hINSR8-CHOK1, cuando son privadas de suero, expresan aproximadamente CHOK1 receptores de INSR tetraméricos por célula. Para la afinidad del anticuerpo, esto significa la estequiometría de 2 anticuerpos por tetrámero de receptor y para el sitio de unión de insulina de alta afinidad, una relación 1:1 de tetrámero a insulina.

Los anticuerpos que se iban a ensayar se biotinilaron usando química de amina convencional y PEG4-biotina activada (Thermo-Fisher, Waltham MA). También se ensayaron los anticuerpos 83-7 y 83-14. Se ha comunicado que estos anticuerpos se unen a los aminoácidos 233-281 del dominio CR y al dominio FnIII-I de INSR, respectivamente (McKern et al, 2006; Nature 443: 218-21). Después de privar de suero a las células transfectadas durante toda la noche, se tiñeron las células con una titulación de los anticuerpos biotinilados en presencia de 1 µg/ml de insulina. Los anticuerpos se incubaron sobre células a 4 °C durante aproximadamente 30 minutos. Entonces se lavaron las muestras 2x en tampón de FACS y se usó estreptavidina-ficoeritrina (Jackson ImmunoResearch Labs, West Grove, PA, EE.UU.) para detectar el anticuerpo biotinilado. Las concentraciones de anticuerpos biotinilados usados en el experimento de agrupamiento se seleccionaron basándose en que tuviesen una señal por debajo de la de saturación, aunque aún fuerte, para la línea celular humana en presencia de insulina. Una vez que se determinaron experimentalmente las concentraciones de los anticuerpos biotinilados que se iban a usar, se llevó a cabo el ensayo de competición del modo siguiente.

Se privó de suero a las células durante toda la noche y después se resuspendieron en tampón de FACS frío con o sin 1 µg/ml de insulina humana. Entonces se mezclaron las células a 1:1 con 60 µg/ml de anticuerpo frío o sin marcar y se incubó a 4 °C durante aproximadamente 30 minutos estableciendo una concentración de Ac fría de 30 µg/ml. Entonces se añadieron los anticuerpos biotinilados en una dilución 1:2 como una concentración 3x y se incubaron a 4 °C durante aproximadamente 30 minutos. Entonces se lavaron las células 2x en tampón de FACS y se detectaron con estreptavidina-ficoeritrina y se ensayaron en un analizador FACS (Becton Dickinson, San Jose, CA).

Se comparó la MFI entre los anticuerpos biotinilados cuando se mezclaron con un anticuerpo de control sin unión o con un anticuerpo competidor. El alcance de la unión se midió en las líneas celulares humanas y murinas y en presencia o ausencia de insulina. Se empleó una estrategia de matriz en la que se ensayó cada anticuerpo biotinilado contra cada competidor frío. Los anticuerpos con los mismos perfiles competidores se consideran como dentro del mismo grupo. Los agrupamientos de grupo ejemplares tal como se presentan en la tabla 13 proceden de las células hINSR8-CHOK1 en presencia de insulina ya que virtualmente todos los clones tuvieron la unión más fuerte en estas condiciones. Los clones mostrados en la tabla 13 se marcan para reflejar otras propiedades de unión, tales como dependencia de insulina y reactividad con murino.

Los resultados del experimento dieron como resultado aproximadamente siete grupos de competición diferentes entre los anticuerpos anti-INSR. Se define un anticuerpo sin competición como uno que muestra menos del 30 % de competición, la competición parcial es una competición mayor del 30 % y menor del 80 %, y la competición completa es una competición mayor del 80 % usando el método descrito anteriormente con hINSR8-CHOK1.

Los anticuerpos que se mapean al grupo 1, que son reactivos con humano y murino, no mostraron competición con AB079, AB076, AB083, competición de parcial a completa con AB085 y AB086 y competición completa con AB030, AB037, AB053, AB001, AB018, y AB064, AB040.

Los anticuerpos en el grupo 2, que son reactivos con humano y murino, mostraron el mismo perfil que aquellos anticuerpos en el grupo 1, pero no mostraron competición con AB086 y competición parcial con AB078.

Los anticuerpos en el grupo 3, que se unen a INSR tanto humano como murino, no mostraron competición con Ab062 y Ab086, competición parcial con Ab086, Ab064, Ab001, Ab018 y competición completa con Ab079, Ab076, Ab083, Ab080, Ab062, y Ab020, Ab019, Ab088, Ab089.

Los anticuerpos del grupo 4, que se unen solo a receptor humano, no mostraron competición con Ab062, Ab086, Ab001, Ab018, Ab030, Ab037, Ab064 y competición completa con Ab079, Ab076, Ab083, Ab080, Ab062, y Ab020, Ab019, Ab088, Ab089

Los anticuerpos del grupo 5 no muestran competición con AB077, AB001, AB018, AB030, AB037, AB079, AB076, AB083, AB019, AB088, AB089, y AB040 y muestran competición completa con AB064, AB062, AB085, y AB078. Estos anticuerpos reaccionan con receptor tanto humano como murino.

Los anticuerpos del grupo 6 mostraron competición de completa a parcial con prácticamente todos los clones ensayados. El clon Ab061 tenía una competición menor del 30 % con Ab019 y el clon Ab074 no mostró competición con Ab088. Estos anticuerpos reaccionan con receptor tanto humano como murino.

- 5 Los anticuerpos agrupados en el grupo 7 no mostraron competición con Ab053, Ab064, 83-7, Ab019, Ab088, y Ab089, mostraron competición parcial con Ab037, Ab078, Ab083, Ab080, y Ab085, y mostraron competición completa con Ab040, Ab062, Ab030, Ab001, y Ab018. Estos anticuerpos reaccionan con receptor tanto humano como murino.
- 10 El grupo 4 de competición, que contiene el clon 83-7 murino, contenía todos los clones que carecían de reactividad murina. Los agrupamientos de anticuerpos se correlacionaron con sus propiedades funcionales. Todos los anticuerpos agonistas humanos se agruparon en el grupo 1. Los anticuerpos moduladores positivos se agruparon en los grupos 3 y 4 con la excepción de Ab004. Los anticuerpos del grupo 3 se unen tanto al complejo INSR-insulina como a INSR solo, mientras que los anticuerpos del grupo 4 se unen al complejo INSR-insulina pero no se unen a INSR solo.
- 15

Tabla 13

Grupos de epítomos

1	2	3	4	5	6	7
Ab030	83-14	Ab079	Ab020	Ab078	Ab061	Ab004
Ab037		Ab080	Ab019	Ab085	Ab074	
Ab053		Ab083	Ab088		Ab077	
Ab001			Ab089			
Ab018			Ab087			
Ab086			83-7			
Ab062			Específico de humano			
Ab064						
Ab040						

Agonista

Modulador positivo (unión específica a complejo)

Modulador positivo (se une a INSR complejo y libre)

Modulador negativo

Listado de secuencias

- 20 <110> Corbin, *et al.*
- <120> Nuevos moduladores
- 25 <130> 27129/44972
- <160> 303
- <170> PatentIn versión 3.5
- 30 <210> 1
- <211> 111
- <212> PRT
- <213> *Mus musculus*
- 35 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <223> cadena ligera de clon XPA.015.175
- 40 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (27)..(36)
- <223> L-CDR1
- 45 <220>
- <221> MISC_FEATURE
- <222> (54)..(56)
- <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (93)..(98)
 5 <223> L-CDR3
 <400> 1
 Asp Leu Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
 1 5 10 15
 Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
 20 25 30
 Gly Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
 35 40 45
 Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Val Pro Ala
 50 55 60
 Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
 65 70 75 80
 Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Asn Arg
 85 90 95
 Glu Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Asn Leu Glu Ile Lys Arg
 100 105 110
 10 <210> 2
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.015.176
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (27)..(36)
 <223> L-CDR1
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (54)..(56)
 <223> L-CDR2
 30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (93)..(98)
 <223> L-CDR3
 35 <400> 2

Asp Leu Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Thr Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

Lys Leu Leu Ile Tyr Leu Ala Ser Asn Leu Glu Ser Gly Ala Pro Ala
50 55 60

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His Asn Arg
85 90 95

Glu Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 3

<211> 111

5 <212> PRT

<213> *Mus musculus*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.015.177

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(36)

15 <223> L-CDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (54)..(56)

20 <223> L-CDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (93)..(98)

25 <223> L-CDR3

<400> 3

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

	<210>	4
	<211>	111
5	<212>	PRT
	<213>	<i>Mus musculus</i>
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
10	<223>	cadena ligera de clon XPA.015.178
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(27)..(36)
15	<223>	L-CDR1
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(54)..(56)
20	<223>	L-CDR2
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(93)..(98)
25	<223>	L-CDR3
	<400>	4

Asp Leu Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Asn Arg
85 90 95

Glu Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 5
<211> 111
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.015.179

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27)..(36)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (54)..(56)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (93)..(98)
<223> L-CDR3

<400> 5

Asp Leu Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Val Ala Val Ser Leu Gly

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

<210> 6
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.015.181

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (27)..(32)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (50)..(52)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (89)..(95)
 <223> L-CDR3

<400> 6

Asp Val Gln Ile Ile Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 7
<211> 108
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.015.182

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27)..(32)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(52)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (89)..(95)
<223> L-CDR3

<400> 7

Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu

85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

5 <210> 8
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

```

10      <220>
      <221> MISC_FEATURE
      <223> cadena ligera de clon XPA.015.183

```

```

15      <220>
      <221> MISC_FEATURE
      <222> (27)..(36)
      <223> L-CDR1

```

```

20      <220>
      <221> MISC_FEATURE
      <222> (54)..(56)
      <223> L-CDR2

```

```

25      <220>
      <221> MISC_FEATURE
      <222> (93)..(98)
      <223> L-CDR3

```

<400> 8

Asp Leu Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Asn Arg
85 90 95

Glu Leu Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 9
<211> 111
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.015.184

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27)..(36)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (54)..(56)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (93)..(98)
<223> L-CDR3

<400> 9

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

5 <210> 10
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.015.185
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (27)..(32)
 <223> L-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (50)..(52)
 <223> L-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (89)..(95)
 <223> L-CDR3
 <400> 10

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

5 <210> 11
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.015.186
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (27)..(32)
 <223> L-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (50)..(52)
 <223> L-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (89)..(95)
 <223> L-CDR3
 <400> 11

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Thr Ile Thr Ile Thr Cys His Ala Ser Gln Asn Ile Asn Val Trp
20 25 30

Leu Thr Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Asn Ile Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Ser Lys Ala Ser Asn Leu His Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Gly Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Gly Gln Ser Tyr Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 12
<211> 111
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.015.187

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27)..(36)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (54)..(56)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (93)..(98)
<223> L-CDR3

<400> 12

Asp Leu Val Leu Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His Asn Arg
85 90 95

Glu Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 13
<211> 108
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.015.188

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27)..(32)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(52)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (89)..(95)
<223> L-CDR3

<400> 13

Asp Val Gln Ile Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Thr Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

5 <210> 14
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.015.189

15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (27)..(36)
 <223> L-CDR1

20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (54)..(56)
 <223> L-CDR2

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (93)..(98)
 <223> L-CDR3

<400> 14

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Ile Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Gly Asn Tyr Tyr Cys Gln His Asn Arg
85 90 95

Glu Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105 110

<210> 15
<211> 108
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.015.190

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27)..(32)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (54)..(56)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (93)..(98)
<223> L-CDR3

<400> 15

Asp Ile Gln Met Thr Gln Thr Thr Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asp Ile Ser Asn Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gly Thr Val Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Tyr Thr Ser Arg Leu His Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Asn Leu Glu Pro
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 16
<211> 108
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.015.191

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27)..(32)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(52)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (89)..(95)
<223> L-CDR3

<400> 16

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

	<210> 17
	<211> 108
5	<212> PRT
	<213> <i>Mus musculus</i>
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
10	<223> cadena ligera de clon XPA.015.192
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (27)..(32)
15	<223> L-CDR1
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (50)..(52)
20	<223> L-CDR2
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (89)..(95)
25	<223> L-CDR3
	<400> 17

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Tyr Leu Ala Ala Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Thr Ile Thr Ile Asn Cys Arg Ala Ser Lys Ser Ile Ser Lys Tyr
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Glu Lys Pro Gly Lys Thr Asn Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ser Gly Ser Thr Leu Gln Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Met Tyr Tyr Cys Gln Gln His Asn Glu Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105

<210> 18
<211> 107
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.015.173

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27)..(32)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(52)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (89)..(94)
<223> L-CDR3

<400> 18

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Leu Gly

1	5	10	15
Gly Lys Val Thr Ile Thr Cys Lys Ala Ser Gln His Ile Asn Lys Tyr	20	25	30
Ile Ala Trp Tyr Gln His Lys Pro Gly Lys Gly Pro Arg Leu Leu Ile	35	40	45
His Tyr Thr Ser Thr Leu Gln Pro Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly	50	55	60
Ser Gly Ser Gly Arg Asp Tyr Ser Phe Ser Ile Ser Asn Leu Glu Pro	65	70	75
Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Asp Asn Leu Tyr Thr	85	90	95
Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg	100	105	

<210> 19
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.015.174

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (27)..(32)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (50)..(52)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (89)..(95)
 <223> L-CDR3

<400> 19

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Phe Ala Ser Leu Gly
1 5 10 15

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

Leu Tyr Trp Leu Gln Gln Glu Pro Asp Gly Ala Ile Lys Arg Leu Ile
35 40 45

Phe Ala Thr Ser Ser Leu Asp Ser Gly Val Pro Lys Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Ser Glu Tyr Ser Leu Thr Ile Ser Ser Leu Glu Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Val Asp Tyr Tyr Cys Leu Gln Tyr Ala Ser Ser Pro Trp
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg
100 105

<210> 20
<211> 111
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.015.172

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27)..(36)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (54)..(56)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (93)..(98)
<223> L-CDR3

<400> 20

ES 2 565 058 T3

Asp Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Thr Ser Leu Ala Val Ser Leu Gly
1 5 10 15

Gln Arg Ala Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Lys Ser Val Ser Thr Ser
20 25 30

Gly Tyr Ser Tyr Ile His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Pro Pro
35 40 45

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

Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Ile Leu Asn Ile His
65 70 75 80

Pro Val Glu Glu Glu Asp Ala Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln His Asn Arg
85 90 95

Asp Pro Arg Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys Arg
100 105 110

5 <210> 21
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.093

15 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(100)
<223> L-CDR3

<400> 21

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

<210> 22
 <211> 99
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de XPA.15.096

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3

<400> 22

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Phe Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

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

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

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Asn Gly Val

5 <210> 23
<211> 100
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.094

15 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(100)
<223> L-CDR3

<400> 23

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ile Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Gly Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Pro His Val
100

5 <210> 24
<211> 99
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.106

15 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 24

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Trp

<210> 25
<211> 97
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.105

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(97)
<223> L-CDR3

<400> 25

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Pro Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Glu Thr Trp Asp Ser Asn Thr
85 90 95

Gln

<210> 26
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.100

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(100)
<223> L-CDR3

<400> 26

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ala Ser Asn Leu Gly Met His
20 25 30

Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Pro Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

5 <210> 27
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.124

15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> L-CDR1

20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(54)
 <223> L-CDR2

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (91)..(100)
 <223> L-CDR3

<400> 27

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

<210> 28
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.121

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (23)..(33)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(100)
 <223> L-CDR3

<400> 28

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Trp Glu Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 29
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.122

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 29

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

	<210>	30
	<211>	112
5	<212>	PRT
	<213>	<i>Homo sapiens</i>
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
10	<223>	cadena ligera de clon XPA.15.127
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(26)..(33)
15	<223>	L-CDR1
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(51)..(53)
20	<223>	L-CDR2
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(90)..(100)
25	<223>	L-CDR3
	<400>	30

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

<210> 31
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.125

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3

<400> 31

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln

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

5	<210> 32 <211> 111 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i>
10	<220> <221> MISC_FEATURE <223> cadena ligera de clon XPA.15.133
15	<220> <221> MISC_FEATURE <222> (26)..(33) <223> L-CDR1
20	<220> <221> MISC_FEATURE <222> (51)..(53) <223> L-CDR2
25	<220> <221> MISC_FEATURE <222> (90)..(99) <223> L-CDR3
	<400> 32

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Phe Ser Asn Ile Gly Gly Asn
20 25 30

Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Ser Tyr Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Val Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 33
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.135

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 33

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Thr Asp Ser Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Val Ser Arg Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Asn Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

5 <210> 34
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.139

15 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 34

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Asn Gly Pro Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 35
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.138

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(100)
<223> L-CDR3

<400> 35

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Asn Gly Phe Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 36
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.143

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 36

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 37
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.141

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 37

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

<210> 38
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.145

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3

<400> 38

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15
Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Arg Ser Asn Ile Gly Ala Asn
20 25 30

Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Val Asn His Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 39
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.140

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 39

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Thr Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 40

<211> 111

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> cadena ligera de clon XPA.15.159

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

<223> L-CDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(53)

<223> L-CDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (90)..(99)

<223> L-CDR3

<400> 40

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala Trp Asp Asp Thr Leu
85 90 95

Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 41
 <211> 111
 <212> PRT
 5 <213> *Homo sapiens*

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.167

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 15 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 20 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 25 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3

 <400> 41

 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15

 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
 20 25 30

 Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
 35 40 45

 Ile Tyr Gly Asp Ile Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
 65 70 75 80

 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Arg Leu
 85 90 95

 Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
 100 105 110

 30 <210> 42
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 35 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.169

 <220>

<221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

5 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3

15 <400> 42

 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
 1 5 10 15

 Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
 20 25 30

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

 Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ala Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
 50 55 60

 Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
 65 70 75 80

 Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
 85 90 95

 Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
 100 105 110

20 <210> 43
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.013

30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

35 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(100)
<223> L-CDR3

5 <400> 43

```

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1          5          10          15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ile Ser Asn Ile Gly Ser Asn
          20          25          30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
          35          40          45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
          50          55          60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65          70          75          80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
          85          90          95

Ser Pro His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
          100          105          110

```

10 <210> 44
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

15 <220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.020

20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

30 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 44

35 Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln

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

<210> 45
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.017

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(54)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (91)..(100)
 <223> L-CDR3

<400> 45

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser
85 90 95

Leu Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 46
<211> 113
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.009

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(34)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (52)..(54)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (91)..(101)
<223> L-CDR3

<400> 46

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Arg Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp His Ser
85 90 95

Leu Ser Ala His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

Gly

5 <210> 47
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.033

15 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 47

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

	<210> 48
	<211> 111
5	<212> PRT
	<213> <i>Homo sapiens</i>
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
10	<223> cadena ligera de clon XPA.15.037
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (26)..(33)
15	<223> L-CDR1
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (51)..(53)
20	<223> L-CDR2
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (90)..(99)
25	<223> L-CDR3
	<400> 48

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Arg Ser Ser Asn Ile Gly Tyr Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 49

<211> 111

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.042

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

15 <223> L-CDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(53)

20 <223> L-CDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (90)..(99)

25 <223> L-CDR3

<400> 49

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

<210> 50
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.036

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(54)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (91)..(100)
 <223> L-CDR3

<400> 50

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ser Trp Asp Asp Ser
85 90 95

His Leu His Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 51
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.047

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(100)
<223> L-CDR3

<400> 51

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Gly Asn
20 25 30

Ser Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Pro His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 52
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.007

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 52

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Asn Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Ser Asn Asp Ile Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 53

<211> 111

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.074

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

15 <223> L-CDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(53)

20 <223> L-CDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (90)..(99)

25 <223> L-CDR3

<400> 53

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Thr Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 54
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.085

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(100)
<223> L-CDR3

<400> 54

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ile Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Pro His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 55
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.075

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(100)
<223> L-CDR3

<400> 55

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

5 <210> 56
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.082
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3
 <400> 56

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

	<210>	57
	<211>	111
5	<212>	PRT
	<213>	<i>Homo sapiens</i>
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
10	<223>	cadena ligera de clon XPA.15.066
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(26)..(33)
15	<223>	L-CDR1
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(51)..(53)
20	<223>	L-CDR2
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(90)..(99)
25	<223>	L-CDR3
	<400>	57

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Gly Asn Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 58
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.080

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(34)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (52)..(54)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (91)..(100)
<223> L-CDR3

<400> 58

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Val Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Thr Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Arg Ser
85 90 95

Leu Ser Gly Ser Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 59
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.099

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(100)
<223> L-CDR3

<400> 59

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

<210> 60
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.102

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3

<400> 60

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

<210> 61
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.115

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> misc_feature
 <222> (39)..(39)
 <223> Xaa puede ser cualquier aminoácido de origen natural

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(100)
 <223> L-CDR3

<400> 61

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ile Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Xaa Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Pro His Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 62
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.111

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 62

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

<210> 63
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.142

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3

<400> 63

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Arg Asn Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Arg Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Val Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Ala Gly Ser Asn
85 90 95

Asn Phe Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 64
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.146

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 64

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Asp Ser Asn Phe Gly Ser Asn
20 25 30

Ser Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Asn Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 65
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.144

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(34)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (52)..(54)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (91)..(100)
<223> L-CDR3

<400> 65

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Pro
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Thr Gly Asn
85 90 95

Asn Gln Phe Val Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 66
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.154

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3

<400> 66

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

5 <210> 67
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.158
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(100)
 <223> L-CDR3
 <400> 67

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Cys Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

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

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
85 90 95

Ile Gly His Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 68
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.155

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 68

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

<210> 69
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.165

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3

<400> 69

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

	<210> 70
	<211> 111
5	<212> PRT
	<213> <i>Homo sapiens</i>
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
10	<223> cadena ligera de clon XPA.15.023
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (26)..(33)
15	<223> L-CDR1
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (51)..(53)
20	<223> L-CDR2
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (90)..(99)
25	<223> L-CDR3
	<400> 70

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala Trp Asp Asp Thr Leu
85 90 95

Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 71
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.022

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 71

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Thr Ser Ser Asn Leu Gly Ser His
20 25 30

Thr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asn Glu Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 72
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.019

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 72

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Val Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

5 <210> 73
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.021

15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3

<400> 73

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Pro Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Ser Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Val Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 74
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.006

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(34)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (52)..(54)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (91)..(100)
<223> L-CDR3

<400> 74

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

5 <210> 75
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.026
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3
 <400> 75

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

<210> 76
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.043

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(54)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (91)..(99)
 <223> L-CDR3

<400> 76

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Lys Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser
85 90 95

Leu Gly Gly Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 77

<211> 109

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.048

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

15 <223> L-CDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(53)

20 <223> L-CDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (90)..(97)

25 <223> L-CDR3

<400> 77

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Ser
20 25 30

Ala Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Ser Gly Thr
85 90 95

Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105

<210> 78

<211> 111

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> cadena ligera de clon XPA.15.062

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

<223> L-CDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(53)

<223> L-CDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (90)..(99)

<223> L-CDR3

<400> 78

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 79
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.059

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 79

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

<210> 80
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.064

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3

<400> 80

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

<210> 81
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.068

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> L-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> L-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> L-CDR3

<400> 81

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala Trp Asp Asp Thr Leu
85 90 95

Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 82
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.081

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 82

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Thr Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala Trp Asp Asp Thr Leu
85 90 95

Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 83
<211> 111
5 <212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
10 <221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.065

<220>
15 <221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
20 <221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
25 <221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 83

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 84
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.077

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 84

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Ser Val Asn Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asn Lys Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 85
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.086

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 85

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

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

Ile Tyr Ser Asn Asn Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Thr Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 86
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.088

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(100)
<223> L-CDR3

<400> 86

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ala Ser Asn Leu Gly Met His
20 25 30

Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Asp Asn Asp Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Ser Tyr Asp Ser Ser Leu
85 90 95

Ser Gly Pro Val Leu Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 87
<211> 110
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.193

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> LCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> LCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (92)..(99)
<223> LCDR3

<400> 87

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

	<210> 88
	<211> 108
5	<212> PRT
	<213> <i>Homo sapiens</i>
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
10	<223> cadena ligera de clon XPA.15.194
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (26)..(31)
15	<223> LCDR1
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (49)..(51)
20	<223> LCDR2
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (88)..(97)
25	<223> LCDR3
	<400> 88

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

<210> 89
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.195

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> LCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(58)
 <223> LCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(104)
 <223> LCDR3

<400> 89

Gln Ala Met Leu Thr Gln Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly Ala
1 5 10 15

Ser Ala Ser Leu Thr Cys Thr Leu Arg Ser Gly Ile Asn Val Val Ala
20 25 30

Tyr Asn Ile Tyr Trp Tyr Arg Gln Lys Ser Gly Ser Pro Pro Gln Ser
35 40 45

Val Leu Arg Tyr Lys Ser Asp Ser Asp Ser Glu Arg Asp Ser Gly Val
50 55 60

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

Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Leu Ile Trp His Asn Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu
100 105 110

Thr Val Leu
115

<210> 90
<211> 110
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.196

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> LCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> LCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (92)..(99)
<223> LCDR3

<400> 90

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1 5 10 15

Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Gly Ser Ile Gly Ser Asn
20 25 30

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

Ile Phe Glu Asp Asn Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Ile His Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65 70 75 80

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

Thr Ile Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 91

<211> 110

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.197

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(53)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (92)..(99)

25 <223> LCDR3

<400> 91

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Arg Ser Val Ser Glu Ser Pro Gly Lys
1 5 10 15

Thr Val Thr Ile Ser Cys Thr Gly Ser Gly Gly Ser Ile Gly Ser Asn
20 25 30

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

Ile Phe Glu Asp Asn Arg Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Ile His Ser Ser Ser Asn Ser Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly
65 70 75 80

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

Thr Ile Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105 110

<210> 92
<211> 108
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.198

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(31)
<223> LCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(51)
<223> LCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(97)
<223> LCDR2

<400> 92

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

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

Tyr Trp Tyr Gln Gln Lys Ser Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
35 40 45

Glu Asp Thr Arg Arg Pro Ser Glu Ile Pro Glu Arg Phe Ser Ala Ser

50

55

60

Ser Ser Gly Thr Met Ala Thr Leu Thr Ile Ser Gly Ala Gln Val Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Glu Tyr Tyr Cys Tyr Ser Thr Asp Ser Ser Gly Asn Glu
85 90 95

Arg Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 93

<211> 111

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.199

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(34)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (52)..(54)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (91)..(100)

25 <223> LCDR3

<400> 93

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

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Gly Ser Asp Ile Gly Thr Tyr
20 25 30

Asn Leu Val Ser Trp Tyr Gln His His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Glu Val Thr Lys Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Leu Tyr Val Phe Gly Thr Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 94
<211> 110
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.200

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(34)
<223> LCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (52)..(54)
<223> LCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (9199)..(98)
<223> LCDR3

<400> 94

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

<210> 95
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.201

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> LCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(58)
 <223> LCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(105)
 <223> LCDR2

<400> 95

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

5 <210> 96
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.202
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> LCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(54)
 <223> LCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (91)..(100)
 <223> LCDR3
 <400> 96

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

5 <210> 97
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.203
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> LCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(54)
 <223> LCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (91)..(99)
 <223> LCDR3
 <400> 97

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

Thr Val Thr Leu Thr Cys Gly Leu Asn Ser Ala Ser Val Ser Thr Tyr
20 25 30

Ser Tyr Pro Ser Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Ala Pro Arg Met
35 40 45

Leu Ile Tyr Ser Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Ala Leu Tyr Met Gly Ser
85 90 95

Gly Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 98
<211> 115
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.204

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(34)
<223> LCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (52)..(58)
<223> LCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (97)..(104)
<223> LCDR3

<400> 98

Gln Ala Val Leu Thr Gln Pro Ala Ser Leu Ser Ala Ser Pro Gly Ala
1 5 10 15

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

Tyr Arg Ile Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Ser Pro Pro Gln Tyr
35 40 45

Leu Leu Ser Tyr Asn Ser Asp Ser Asn Asn His Gln Gly Ser Gly Val
50 55 60

Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Lys Asp Ala Ser Ala Asn Ala Gly Ile
65 70 75 80

Leu Leu Ile Ser Gly Leu Gln Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys
85 90 95

Met Ile Trp His Ile Asn Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val
100 105 110

Thr Val Leu
115

5 <210> 99
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.205

15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> LCDR1

20 <220>
 <221> MISC_FEATURE51
 <222> (51)..(53)
 <223> LCDR2

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE51
 <222> (90)..(99)
 <223> LCDR3

 <400> 99

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

<210> 100
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.206

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> LCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(54)
 <223> LCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (91)..(102)
 <223> LCDR3

<400> 100

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

Leu

5 <210> 101
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.207
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> LCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(58)
 <223> LCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(105)
 <223> LCDR3
 <400> 101

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

5 <210> 102
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.208
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> LCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(58)
 <223> LCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(105)
 <223> LCDR3
 <400> 102

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

5 <210> 103
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.209
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> LCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(54)
 <223> LCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (91)..(99)
 <223> LCDR3
 <400> 103

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

5 <210> 104
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.211

 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> LCDR1

 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(54)
 <223> LCDR2

 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (91)..(101)
 <223> LCDR3

 <400> 104

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

	<210>	105
	<211>	108
5	<212>	PRT
	<213>	<i>Homo sapiens</i>
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
10	<223>	cadena ligera de clon XPA.15.212
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(26)..(31)
15	<223>	LCDR1
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(49)..(51)
20	<223>	LCDR2
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(88)..(97)
25	<223>	LCDR3
	<400>	105

Ser Ser Glu Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Val Ala Pro Gly Lys
1 5 10 15

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Gly Gly Asp Asn Ile Ala Ser Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Leu Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Val Arg Pro Ser Asp Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Ala Asn Thr Ala Thr Leu Thr Leu Thr Arg Val Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Gly Glu Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Val Arg Ser Asp His
85 90 95

Pro Phe Phe Gly Pro Gly Thr Lys Val Thr Val Leu
100 105

<210> 106

<211> 111

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.213

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(34)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (52)..(54)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (91)..(100)

25 <223> LCDR3

<400> 106

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

Thr	Val	Thr	Leu	Thr	Cys	Ala	Ser	Ser	Thr	Gly	Ala	Val	Thr	Ser	Gly
			20					25					30		
Tyr	Tyr	Pro	Asn	Trp	Phe	Gln	Gln	Lys	Pro	Gly	Gln	Ala	Pro	Arg	Ala
		35					40					45			
Leu	Ile	Tyr	Ser	Thr	Ser	Asn	Lys	His	Ser	Trp	Thr	Pro	Ala	Arg	Phe
	50					55					60				
Ser	Gly	Ser	Leu	Leu	Gly	Gly	Lys	Ala	Ala	Leu	Thr	Leu	Ser	Gly	Val
65					70					75					80
Gln	Pro	Glu	Asp	Glu	Ala	Glu	Tyr	Tyr	Cys	Leu	Leu	Tyr	Tyr	Gly	Gly
				85					90					95	
Ala	Gln	Pro	Trp	Val	Phe	Gly	Gly	Gly	Thr	Gln	Leu	Thr	Val	Leu	
			100					105					110		

5 <210> 107
 <211> 110
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.214

15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> LCDR1

20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(53)
 <223> LCDR2

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (90)..(99)
 <223> LCDR3

<400> 107

Gln Ala Gly Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Lys Gly Leu Arg Gln
1 5 10 15

Thr Ala Thr Leu Thr Cys Thr Gly Asp Asn Asn Ile Val Gly Asp Gln
20 25 30

Gly Ala Ala Trp Leu Gln Gln His Gln Gly His Pro Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ser Phe Arg Asn Asn Ser Arg Pro Ser Gly Ile Ser Glu Arg Phe Ser

50

55

60

Ala Ser Arg Ser Arg Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Arg Leu Gln
65 70 75 80

Pro Glu Asp Ala Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ala Trp Asp Ser Phe Leu
85 90 95

Ser Ala Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 108
<211> 108
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.215

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(31)
<223> LCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(51)
<223> LCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(97)
<223> LCDR3

<400> 108

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

Ser Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Lys Asn Phe Tyr Ala
20 25 30

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

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Val Thr Gly Ala Gln Ala Asp
65 70 75 80

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

Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 109
<211> 108
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

```
<220>  
<221> MISC_FEATURE  
<223> cadena ligera de clon XPA.15.216
```

```
<220>  
<221> MISC_FEATURE  
<222> (27)..(33)  
<223> LCDR1
```

```
<220>  
<221> MISC_FEATURE  
<222> (51)..(54)  
<223> LCDR2
```

```
<220>  
<221> MISC_FEATURE  
<222> (91)..(97)  
<223> LCDR3
```

<400> 109

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Val Ser Ser Ser
20 25 30

Tyr Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Ala Ser Ser Arg Ala Thr Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu
65 70 75 80

Pro Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Gly Ser Ser Leu
85 90 95

Gly Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 110
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.217

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27)..(37)
<223> LCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (55)..(57)
<223> LCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (94)..(100)
<223> LCDR3

<400> 110

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gln Ser Leu Leu Tyr Thr
20 25 30

Asn Gly Asp Thr Tyr Val Ser Trp Tyr Val Gln Lys Pro Gly Gln Ala
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Phe Ser Asp Val Ser Ser Arg Phe Phe Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Val Gln Ala
85 90 95

Met Tyr Leu Pro Leu Val Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 111
<211> 108
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.218

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(31)
<223> LCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(51)
<223> LCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(97)
<223> LCDR3

<400> 111

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

5 <210> 112
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.219
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> LCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(54)
 <223> LCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (91)..(100)
 <223> LCDR3
 <400> 112

Gln Ser Ala Leu Thr Gln Pro Ala Ser Val Ser Gly Ser Leu Gly Gln
1 5 10 15

Ser Ile Thr Ile Ser Cys Thr Gly Thr Ser Ser Asp Ile Gly Leu Tyr
20 25 30

Lys Phe Val Ser Trp Tyr Gln Gln His Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Met Ile Tyr Asp Val Ser Tyr Arg Pro Ser Gly Val Ser Asn Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Gln Ala Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Tyr Thr Ser Ser
85 90 95

Ser Thr Leu Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 113

<211> 108

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.220

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(31)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (49)..(51)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (88)..(97)

25 <223> LCDR3

<400> 113

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

Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Asn Tyr Tyr Ala
20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Leu Leu Val Met Tyr
35 40 45

Asp Arg Asn Ser Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Arg Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
85 90 95

Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 114
<211> 108
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.221

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(31)
<223> LCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(51)
<223> LCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(97)
<223> LCDR3

<400> 114

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Thr Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Arg Ser Ser Glu His
85 90 95

His Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 115

<211> 108

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.222

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(31)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (49)..(51)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (88)..(97)

25 <223> LCDR3

<400> 115

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

5 <210> 116
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.223
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(31)
 <223> LCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (49)..(51)
 <223> LCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (88)..(97)
 <223> LCDR3
 <400> 116

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

5 <210> 117
 <211> 109
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.224
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(31)
 <223> LCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (49)..(51)
 <223> LCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (88)..(97)
 <223> LCDR3
 <400> 117

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

5 <210> 118
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.225
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(31)
 <223> LCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (49)..(51)
 <223> LCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (88)..(97)
 <223> LCDR3
 <400> 118

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

Thr Ala Thr Ile Thr Cys Gly Gly Asn Asn Ile Gly Thr Lys Ser Val
20 25 30

His Trp Tyr Gln Gln Lys Thr Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Val Tyr
35 40 45

Asp Asp Ser Asp Arg Pro Ser Gly Ile Pro Glu Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Asn Ser Gly Asn Thr Ala Thr Leu Thr Ile Ser Arg Leu Glu Ala Gly
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gln Val Trp Asp Arg Ser Ser Glu His
85 90 95

His Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 119
<211> 108
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.226

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(31)
<223> LCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (49)..(51)
<223> LCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(97)
<223> LCDR3

<400> 119

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

Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Ser Tyr Tyr Thr
 20 25 30
 Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Phe
 35 40 45
 Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
 50 55 60
 Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
 65 70 75 80
 Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn Tyr
 85 90 95
 Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
 100 105

5 <210> 120
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.227
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(31)
 <223> LCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (49)..(51)
 <223> LCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (88)..(97)
 <223> LCDR3
 <400> 120

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

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

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Phe Tyr
35 40 45

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Gly Arg Phe Ser Gly Ser

50

55

60

Lys Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
85 90 95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 121

<211> 110

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.228

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(53)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (90)..(99)

25 <223> LCDR3

<400> 121

Ser Tyr Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Asn Ser Asn Ile Gly Ser Asn
20 25 30

Phe Val Thr Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Ala Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Thr Asn Ser Gln Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Arg Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Gln
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Phe Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Asn Gly Pro Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105 110

<210> 122

<211> 109

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.229

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(53)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (90)..(98)

25 <223> LCDR3

<400> 122

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

	<210>	123
	<211>	108
5	<212>	PRT
	<213>	<i>Homo sapiens</i>
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
10	<223>	cadena ligera de clon XPA.15.230
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(26)..(31)
15	<223>	LCDR1
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(49)..(51)
20	<223>	LCDR2
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(88)..(97)
25	<223>	LCDR3
	<400>	123

```

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

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

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Val Leu Val Ile Tyr
      35      40      45

Gly Lys Asn Asn Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
      50      55      60

Ser Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65      70      75      80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ser Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asp Gln
      85      90      95

Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu
      100      105

```

```

5  <210> 124
   <211> 108
   <212> PRT
   <213> Homo sapiens

10 <220>
   <221> MISC_FEATURE
   <223> cadena ligera de clon XPA.15.231

15 <220>
   <221> MISC_FEATURE
   <222> (26)..(31)
   <223> LCDR1

20 <220>
   <221> MISC_FEATURE
   <222> (49)..(51)
   <223> LCDR2

25 <220>
   <221> MISC_FEATURE
   <222> (88)..(97)
   <223> LCDR3

   <400> 124

```


Ser Ser Glu Leu Thr Gln Asn Pro Ala Val Ser Val Ala Leu Gly Gln
1 5 10 15

Thr Val Arg Ile Thr Cys Gln Gly Asp Ser Leu Arg Asn Tyr Tyr Ala
20 25 30

Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Leu Leu Val Met Tyr
35 40 45

Asp Arg Asn Ser Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser
50 55 60

Arg Ser Gly Asn Thr Ala Ser Leu Thr Ile Thr Gly Ala Gln Ala Glu
65 70 75 80

Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Asn Ser Arg Asp Ser Ser Gly Asn His
85 90 95

Ala Val Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 125

<211> 109

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.232

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(53)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (88)..(96)

25 <223> LCDR3

<400> 125

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Pro Gly Gln
1 5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln His Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Phe Asp Asn Asp Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95

Asn Pro Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 126

<211> 109

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.233

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(53)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (88)..(96)

25 <223> LCDR3

<400> 126

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Ala Gly Gln
1 5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln His Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Phe Asp Asn Asp Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95

Asn Pro Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

5 <210> 127
<211> 109
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.234

15 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> LCDR1

20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> LCDR2

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (88)..(96)
<223> LCDR3

<400> 127

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Ala Gly Gln
1 5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln His Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Phe Asp Asn Asp Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95

Asn Pro Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu
100 105

<210> 128

<211> 110

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.235

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(37)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (55)..(57)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (94)..(98)

25 <223> LCDR3

<400> 128

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

	<210>	129
	<211>	107
5	<212>	PRT
	<213>	<i>Homo sapiens</i>
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
10	<223>	cadena ligera de clon XPA.15.236
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(27)..(32)
15	<223>	LCDR1
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(50)..(52)
20	<223>	LCDR2
	<220>	
	<221>	MISC_FEATURE
	<222>	(99)..(105)
25	<223>	LCDR3
	<400>	129

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Lys Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Gly Ser Ser
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Ile Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Thr Asn Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 130

<211> 107

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.237

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(32)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (50)..(52)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (99)..(105)

25 <223> LCDR3

<400> 130

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

5 <210> 131
 <211> 108
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.226
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.238
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (27)..(32)
 <223> LCDR1
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (50)..(52)
 <223> LCDR2
 30 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (99)..(105)
 <223> LCDR3
 <400> 131

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

5 <210> 132
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.239
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (27)..(37)
 <223> LCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (55)..(57)
 <223> LCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (94)..(100)
 <223> LCDR3
 <400> 132

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu His Ser
20 25 30

Asn Gly Tyr Asn Tyr Leu Asp Trp Tyr Leu Gln Lys Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Gln Leu Leu Ile Tyr Leu Gly Ser Asn Arg Ala Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Ala
85 90 95

Leu Gln Thr Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 133

<211> 106

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.241

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(32)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (50)..(52)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (99)..(104)

25 <223> LCDR3

<400> 133

Glu Ile Val Met Thr Gln Ser Pro Ala Thr Leu Ser Val Ser Pro Gly
1 5 10 15

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Asn
20 25 30

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

Tyr Gly Ala Ser Thr Arg Ala Thr Gly Ile Pro Ala Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Ser
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Glu Ile Ser
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 134

<211> 106

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.242

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(32)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (50)..(52)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (99)..(104)

25 <223> LCDR3

<400> 134

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Asn Ser
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Leu
35 40 45

Tyr Ala Thr Ser Arg Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Tyr Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ser Tyr Tyr Cys Gln Gln Phe Tyr Ser Asn Pro Ser
85 90 95

Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 135
<211> 107
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.243

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (27)..(32)
<223> LCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (50)..(52)
<223> LCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (99)..(105)
<223> LCDR3

<400> 135

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Ala Asn Ser Phe Pro Ile
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 136

<211> 107

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.244

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(32)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (50)..(52)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (99)..(105)

25 <223> LCDR3

<400> 136

Asp Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Gly Ile Ser Ser Ala
20 25 30

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

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

Ser Gly Thr Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Glu Asp Phe Ala Ser Tyr Tyr Cys His Gln Phe Asn Ser Tyr Pro Asp
85 90 95

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 137

<211> 107

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.245

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(32)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (50)..(52)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (99)..(105)

25 <223> LCDR3

<400> 137

Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Thr Trp
20 25 30

Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Thr Thr Ser Thr Leu Glu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Arg Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

Asp Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asn Ser Tyr Pro Leu
85 90 95

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 138

<211> 108

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.246

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(33)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(53)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (100)..(106)

25 <223> LCDR3

<400> 138

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

Glu Arg Ala Thr Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Leu Ser Ser Ser
20 25 30

Phe Leu Ala Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Gln Ala Pro Arg Leu Leu
35 40 45

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

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

Leu Glu Asp Phe Ala Val Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Arg Ser Gln
85 90 95

Ile Thr Phe Gly Gln Gly Thr Arg Leu Glu Ile Lys
100 105

<210> 139

<211> 112

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.247

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(37)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (55)..(57)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (94)..(1010)

25 <223> LCDR3

<400> 139

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Leu Ser Leu Val Tyr Gly
20 25 30

Asp Glu Asn Thr Tyr Leu Asn Trp Phe Gln Gln Arg Pro Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Arg Arg Leu Leu Tyr Lys Val Ser Asp Arg Asp Ser Gly Val Pro
50 55 60

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

Ser Arg Val Glu Ala Asp Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln Gly
85 90 95

Thr His Trp Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

<210> 140

<211> 107

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.248

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(32)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (50)..(52)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (99)..(105)

25 <223> LCDR3

<400> 140

Glu Ile Val Leu Thr Gln Ser Pro Asp Phe Gln Ser Val Thr Pro Lys
1 5 10 15

Glu Thr Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Asn Ile Gly Val Ser
20 25 30

Leu His Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Asp Gln Ser Pro Lys Val Leu Ile
35 40 45

Lys Tyr Ala Ser Gln Ser Leu Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Thr Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Lys Ser Leu Glu Ala
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 141

<211> 107

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena ligera de clon XPA.15.249

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (27)..(32)

15 <223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (50)..(52)

20 <223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (99)..(105)

25 <223> LCDR3

<400> 141

Ala Ile Gln Leu Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Ser Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Thr Ser Tyr
20 25 30

Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Asn Leu Leu Ile
35 40 45

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ala Gly Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

	<210> 142
	<211> 107
5	<212> PRT
	<213> <i>Homo sapiens</i>
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
10	<223> cadena ligera de clon XPA.15.250
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (27)..(32)
15	<223> LCDR1
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (50)..(52)
20	<223> LCDR2
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
	<222> (99)..(105)
25	<223> LCDR3
	<400> 142

Ala Ile Arg Met Thr Gln Ser Pro Ser Thr Leu Ser Ala Ser Val Gly
1 5 10 15

Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Arg Ala Ser Gln Ser Ile Ser Ser Trp
20 25 30

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

Tyr Ala Ala Ser Asn Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys
100 105

<210> 143
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.272

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(34)
<223> LCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (52)..(54)
<223> LCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (91)..(100)
<223> LCDR3

<400> 143

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

<210> 144
 <211> 111
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.275

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> LCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(54)
 <223> LCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (91)..(99)
 <223> LCDR3

<400> 144

Gln Thr Val Val Thr Gln Glu Pro Ser Phe Ser Val Ser Pro Gly Gly
1 5 10 15

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

Asn Phe Pro Gly Trp Tyr Gln Gln Thr Pro Gly Gln Thr Leu Arg Thr
35 40 45

Leu Ile Tyr Asn Thr Asn Thr Arg Ser Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Ile Leu Gly Asn Lys Ala Ala Leu Thr Ile Thr Gly Ala
65 70 75 80

Gln Ala Asp Asp Glu Ser Asp Tyr Tyr Cys Val Leu Tyr Met Thr Gly
85 90 95

Asp Ile Trp Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Val Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 145

<211> 110

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> cadena ligera de clon XPA.15.282

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

<223> LCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(53)

<223> LCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (90)..(98)

<223> LCDR3

<400> 145

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Val Ser Ala Ala Ala Gly Gln
1 5 10 15

Lys Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Tyr Val Thr Trp Tyr Gln His Val Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Phe Asp Asn Asp Lys Arg Pro Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Thr Leu Ala Ile Thr Gly Leu Gln
65 70 75 80

Thr Gly Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Gly Thr Trp Asp Ser Ser Leu
85 90 95

Asn Pro Leu Phe Gly Gly Gly Thr Gln Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 146
<211> 110
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.284

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> LCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> LCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(98)
<223> LCDR3

<400> 146

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

5 <210> 147
 <211> 114
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena ligera de clon XPA.15.293
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (27)..(38)
 <223> LCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (56)..(58)
 <223> LCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (95)..(101)
 <223> LCDR3
 <400> 147

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

Glu Pro Ala Ser Ile Ser Cys Arg Ser Ser Gln Ser Leu Leu Asp Ser
20 25 30

Asp Asp Gly Asn Thr Tyr Leu Asp Trp Tyr Val Gln Lys Pro Gly Gln
35 40 45

Ser Pro Gln Leu Leu Met Tyr Ser Leu Ser Tyr Arg Ala Ser Gly Val
50 55 60

Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Lys
65 70 75 80

Ile Ser Arg Val Glu Ala Glu Asp Val Gly Val Tyr Tyr Cys Met Gln
85 90 95

Arg Ile Glu Phe Pro Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile
100 105 110

Lys Arg

<210> 148
<211> 113
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.110

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (97)..(101)
<223> L-CDR3

<400> 148

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

Gly

5 <210> 149
<211> 111
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.120

15 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> L-CDR1

20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(53)
<223> L-CDR2

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (90)..(99)
<223> L-CDR3

<400> 149

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Gln
1 5 10 15

Arg Val Thr Ile Ser Cys Ser Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Asn Asn
20 25 30

Tyr Val Ser Trp Tyr Gln Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu Leu
35 40 45

Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Arg Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe Ser
50 55 60

Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu Arg
65 70 75 80

Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Ala Ala Trp Asp Asp Ser Leu
85 90 95

Ser Ala Val Val Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 150
<211> 112
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena ligera de clon XPA.15.163

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(34)
<223> L-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (52)..(54)
<223> L-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (91)..(100)
<223> L-CDR3

<400> 150

Gln Ser Val Leu Thr Gln Pro Pro Ser Ala Ser Gly Thr Pro Gly Leu
1 5 10 15

Arg Val Ile Ile Ser Cys Ala Gly Ser Ser Ser Asn Ile Gly Ala Gly
20 25 30

Tyr Asp Val His Trp Tyr His Gln Leu Pro Gly Thr Ala Pro Lys Leu
35 40 45

Leu Ile Tyr Gly Asn Ser Asn Gln Pro Ser Gly Val Pro Asp Arg Phe
50 55 60

Ser Gly Ser Lys Ser Gly Thr Ser Ala Ser Leu Ala Ile Ser Gly Leu
65 70 75 80

Arg Ser Glu Asp Glu Ala Asp Tyr Tyr Cys Thr Ser Tyr Thr Gly Asn
85 90 95

Asn Gln Phe Val Ile Phe Gly Gly Gly Thr Lys Leu Thr Val Leu Gly
100 105 110

<210> 151

<211> 119

5 <212> PRT

<213> *Mus musculus*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena pesada de clon XPA.015.172

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

15 <223> H-CDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(58)

20 <223> H-CDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (97)..(108)

25 <223> H-CDR3

<400> 151

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

5 <210> 152
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.189
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> H-CDR3
 <400> 152

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

5 <210> 153
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.176
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> H-CDR3
 <400> 153

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

<210> 154
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.178

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> H-CDR3

<400> 154

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

5 <210> 155
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.183
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> H-CDR3
 <400> 155

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

5 <210> 156
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.188
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(105)
 <223> H-CDR3
 <400> 156

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

<210> 157
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.185

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(105)
 <223> H-CDR3

<400> 157

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

5 <210> 158
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.192
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(105)
 <223> H-CDR3
 <400> 158

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

Ser Val Lys Ile Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Thr Phe Thr Asp Ser
20 25 30

Tyr Met Asn Trp Val Lys Gln Ser His Gly Lys Ser Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Asp Ile Asn Pro Asn Asn Gly Asp Thr Asn Tyr Asn Gln Lys Phe
50 55 60

Lys Asp Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Ser Ser Ser Ala Phe
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Arg Gly Ala Met Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Ser Val
100 105 110

Thr Val Ser Ser
115

<210> 159
<211> 119
<212> PRT
<213> *Mus musculus*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena pesada de clon XPA.015.177

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> H-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(58)
<223> H-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (97)..(108)
<223> H-CDR3

<400> 159

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

5 <210> 160
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.175
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> H-CDR3
 <400> 160

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

5 <210> 161
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.179
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> H-CDR3
 <400> 161

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

5 <210> 162
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.184
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> H-CDR3
 <400> 162

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

5 <210> 163
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.181
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(105)
 <223> H-CDR3
 <400> 163

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

5 <210> 164
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.182
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(105)
 <223> H-CDR3
 <400> 164

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

5 <210> 165
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.186
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> H-CDR3
 <400> 165

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

<210> 166
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.187

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> H-CDR3

<400> 166

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

5 <210> 167
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.190
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(104)
 <223> H-CDR3
 <400> 167

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

5 <210> 168
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.191
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> H-CDR3
 <400> 168

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

<210> 169
 <211> 115
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.173

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(104)
 <223> H-CDR3

<400> 169

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

5 <210> 170
 <211> 113
 <212> PRT
 <213> *Mus musculus*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.015.174
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(102)
 <223> H-CDR3
 <400> 170

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

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

Asp Ile Asn Trp Val Lys Gln Arg Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Ile
35 40 45

Gly Trp Ile Tyr Pro Arg Asp Gly Ser Thr Lys Ser Asn Glu Lys Phe
50 55 60

Lys Gly Lys Ala Thr Leu Thr Val Asp Thr Ser Ser Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu His Ser Leu Thr Ser Glu Asp Ser Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Glu Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
100 105 110

Ala

<210> 171
<211> 120
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena pesada de clon XPA.15.023

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> H-CDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(58)
<223> H-CDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (97)..(109)
<223> H-CDR3

<400> 171

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

5 <210> 172
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.068
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> H-CDR3
 <400> 172

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

5 <210> 173
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.081
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> H-CDR3
 <400> 173

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

<210> 174
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA015.159

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> H-CDR3

<400> 174

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

5 <210> 175
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.171
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> H-CDR3
 <400> 175

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

<210> 176
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.102

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> H-CDR3

<400> 176

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

<210> 177
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.093

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3

<400> 177

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

5 <210> 178
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.094
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3
 <400> 178

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

5 <210> 179
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.013
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3
 <400> 179

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

5 <210> 180
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.047
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3
 <400> 180

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

5 <210> 181
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.075
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3
 <400> 181

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

5 <210> 182
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.115
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3
 <400> 182

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

5 <210> 183
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.065
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(57)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (96)..(110)
 <223> H-CDR3
 <400> 183

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

<210> 184
 <211> 121
 5 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 10 <223> cadena pesada de clon XPA.15.086
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 15 <223> H-CDR1
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(57)
 20 <223> H-CDR2
 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (96)..(110)
 25 <223> H-CDR3
 <400> 184

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

<210> 185
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.106

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(57)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (96)..(110)
 <223> H-CDR3

<400> 185

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

<210> 186
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.082

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(57)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (96)..(110)
 <223> H-CDR3

<400> 186

Glu Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

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

<210> 187
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.088

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(118)
 <223> H-CDR3

<400> 187

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

Ser

5 <210> 188
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.100
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(118)
 <223> H-CDR3
 <400> 188

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

Ser

5 <210> 189
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.163
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(118)
 <223> H-CDR3
 <400> 189

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

Ser

5 <210> 190
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.120
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3
 <400> 190

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

5 <210> 191
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.059
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3
 <400> 191

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

5 <210> 192
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.022

 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(106)
 <223> H-CDR3

 <400> 192

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

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

Tyr Met Ser Trp Ile Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
35 40 45

Ser Arg Ile Ser Trp Asn Ser Gly Ser Ile Gly Tyr Ala Asp Ser Leu
50 55 60

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

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

Ala Arg Glu Arg Gly Tyr Gly Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu

100

105

110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 193
<211> 117
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

```
<220>  
<221> MISC_FEATURE  
<223> cadena pesada de clon XPA.15.021
```

```
<220>  
<221> MISC_FEATURE  
<222> (26)..(33)  
<223> H-CDR1
```

```
<220>  
<221> MISC_FEATURE  
<222> (51)..(57)  
<223> H-CDR2
```

```
<220>  
<221> MISC_FEATURE  
<222> (96)..(106)  
<223> H-CDR3
```

<400> 193

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

	<210> 194
	<211> 120
5	<212> PRT
	<213> <i>Homo sapiens</i>
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
10	<223> cadena pesada de clon XPA.15.026
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
15	<222> (26)..(33)
	<223> H-CDR1
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
20	<222> (51)..(58)
	<223> H-CDR2
	<220>
	<221> MISC_FEATURE
25	<222> (97)..(109)
	<223> H-CDR3
	<400> 194

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

<210> 195
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.048

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3

<400> 195

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

5 <210> 196
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.064
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(105)
 <223> H-CDR3
 <400> 196

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

5 <210> 197
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.077
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3
 <400> 197

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

<210> 198
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.096

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(115)
 <223> H-CDR3

<400> 198

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

<210> 199
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.105

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> H-CDR3

<400> 199

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

<210> 200
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.110

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(118)
 <223> H-CDR3

<400> 200

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

Ser

5 <210> 201
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.124
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(57)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (96)..(108)
 <223> H-CDR3
 <400> 201

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

5 <210> 202
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.121
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(56)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (95)..(108)
 <223> H-CDR3
 <400> 202

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

<210> 203
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.122

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(56)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (95)..(105)
 <223> H-CDR3

<400> 203

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

5 <210> 204
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.127
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(112)
 <223> H-CDR3
 <400> 204


```

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

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

Ala Val His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
      35              40             45

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

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

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

Ala Ser Asp Val Glu Gly Gly Tyr Phe His Asn Ser Gly Pro Asp His
      100             105            110

Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
      115             120

```

5
 10
 15
 20
 25

```

    <210> 205
    <211> 120
    <212> PRT
    <213> Homo sapiens

    <220>
    <221> MISC_FEATURE
    <223> cadena pesada de clon XPA.015.125

    <220>
    <221> MISC_FEATURE
    <222> (26)..(33)
    <223> H-CDR1

    <220>
    <221> MISC_FEATURE
    <222> (51)..(58)
    <223> H-CDR2

    <220>
    <221> MISC_FEATURE
    <222> (97)..(109)
    <223> H-CDR3

    <400> 205
  
```

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

<210> 206
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.133

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> H-CDR3

<400> 206

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

5 <210> 207
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.135
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> H-CDR3
 <400> 207

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

<210> 208
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.139

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3

<400> 208

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

<210> 209
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.138

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(110)
 <223> H-CDR3

<400> 209

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

5 <210> 210
<211> 118
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena pesada de clon XPA.15.143

15 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> H-CDR1

20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(58)
<223> H-CDR2

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (97)..(107)
<223> H-CDR3

<400> 210

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

<210> 211
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.145

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3

<400> 211

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

5 <210> 212
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.140
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(112)
 <223> H-CDR3
 <400> 212

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

```

5      <210> 213
      <211> 120
      <212> PRT
      <213> Homo sapiens

      <220>
      <221> MISC_FEATURE
10     <223> cadena pesada de clon XPA.15.167

      <220>
      <221> MISC_FEATURE
      <222> (26)..(33)
15     <223> H-CDR1

      <220>
      <221> MISC_FEATURE
      <222> (51)..(58)
20     <223> H-CDR2

      <220>
      <221> MISC_FEATURE
      <222> (97)..(109)
25     <223> H-CDR3

      <400> 213

```

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

5 <210> 214
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.169

15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(56)
 <223> H-CDR2

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (95)..(109)
 <223> H-CDR3

 <400> 214

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

5	<210> 215 <211> 123 <212> PRT <213> <i>Homo sapiens</i>
10	<220> <221> MISC_FEATURE <223> cadena pesada de clon XPA.15.020
15	<220> <221> MISC_FEATURE <222> (26)..(33) <223> H-CDR1
20	<220> <221> MISC_FEATURE <222> (51)..(57) <223> H-CDR2
25	<220> <221> MISC_FEATURE <222> (96)..(112) <223> H-CDR3
	<400> 215

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

115

120

5 <210> 216
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.017
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(57)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (96)..(110)
 <223> H-CDR3
 <400> 216

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

<210> 217
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.033

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(105)
 <223> H-CDR3

<400> 217

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

5 <210> 218
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.037
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(56)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (95)..(106)
 <223> H-CDR3
 <400> 218

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

5 <210> 219
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.042
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> H-CDR3
 <400> 219

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

<210> 220
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.036

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(111)
 <223> H-CDR3

<400> 220

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

<210> 221

<211> 121

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena pesada de clon XPA.15.007

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

15 <223> H-CDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(58)

20 <223> H-CDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (97)..(110)

25 <223> H-CDR3

<400> 221

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

<210> 222
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.074

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3

<400> 222

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

5 <210> 223
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.066
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> H-CDR3
 <400> 223

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

<210> 224
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.080

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> H-CDR3

<400> 224

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

5 <210> 225
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.111
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> H-CDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> H-CDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> H-CDR3
 <400> 225

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

5 <210> 226
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.193

 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(113)
 <223> HCDR3

 <400> 226

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

<210> 227
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.194

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(110)
 <223> HCDR3

<400> 227

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

<210> 228
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.195

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> HCDR3

<400> 228

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

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

Trp Ile Gly Trp Val Arg Gln Met Pro Gly Arg Gly Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Ile Ile Tyr Pro Gly Asp Ser Asp Thr Arg Tyr Ser Pro Ser Phe
50 55 60

Gln Gly Gln Val Thr Ile Ser Val Asp Lys Ser Ile Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Leu Gln Trp Ser Ser Leu Lys Ala Ser Asp Thr Ala Met Tyr Tyr Cys
85 90 95

Ala Thr His His Ala Ser Gly Arg Gly Leu Asp Pro Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 229
<211> 124
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena pesada de clon XPA.15.196

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> HCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(58)
<223> HCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (99)..(113)
<223> HCDR3

<400> 229

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

<210> 230
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.197

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(113)
 <223> HCDR3

<400> 230

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

<210> 231
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.198

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(110)
 <223> HCDR3

<400> 231

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

<210> 232
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.199

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(57)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (96)..(106)
 <223> HCDR3

<400> 232

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ser Glu Val Lys Lys Pro Gly Ala

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

5 <210> 233
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.200

15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(111)
 <223> HCDR3

<400> 233

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

<210> 234
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.202

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(57)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (96)..(111)
 <223> HCDR3

<400> 234

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

5 <210> 235
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.203
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(115)
 <223> HCDR3
 <400> 235

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

<210> 236
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.204

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(111)
 <223> HCDR3

<400> 236

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

5 <210> 237
 <211> 126
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.205

15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(115)
 <223> HCDR3

 <400> 237

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

5 <210> 238
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.206
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(106)
 <223> HCDR3
 <400> 238

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

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

Ala Met His Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Arg Leu Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Asn Ala Gly Asn Gly Asn Thr Arg Tyr Ser Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Arg Asp Thr Ser Ala Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

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

Ala Arg Tyr Thr Ser Gly Ser Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 239
<211> 118
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena pesada de clon XPA.15.207

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> HCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(58)
<223> HCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (97)..(105)
<223> HCDR3

<400> 239

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

5 <210> 240
 <211> 127
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.208
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(116)
 <223> HCDR3
 <400> 240

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

<210> 241
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.209

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(111)
 <223> HCDR3

<400> 241

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

5 <210> 242
 <211> 133
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.210
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(122)
 <223> HCDR3
 <400> 242

Gln Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Lys Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Thr Phe Ser Ser Tyr
 20 25 30
 Ala Ile Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Gly Ile Ile Pro Ile Phe Gly Thr Ala Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
 50 55 60
 Gln Gly Arg Val Thr Ile Thr Ala Asp Glu Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
 65 70 75 80
 Met Glu Leu Ser Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Ala Arg Gly Leu Pro Pro Lys Pro Tyr Tyr Asp Phe Trp Ser Gly Tyr
 100 105 110
 Trp Gly Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly Gln Gly Thr Thr
 115 120 125
 Val Thr Val Ser Ser
 130

5 <210> 243
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.211
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(57)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (96)..(109)
 <223> HCDR3
 <400> 243

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

<210> 244
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.212

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(35)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (53)..(61)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (100)..(110)
 <223> HCDR3

<400> 244

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

<210> 245
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.213

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(106)
 <223> HCDR3

<400> 245

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

5 <210> 246
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.214
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(105)
 <223> HCDR3
 <400> 246

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

5 <210> 247
 <211> 122
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.215
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(111)
 <223> HCDR3
 <400> 247

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

5 <210> 248
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.216
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(117)
 <223> HCDR3
 <400> 248

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

<210> 249
 <211> 131
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.217

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(62)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (101)..(120)
 <223> HCDR3

<400> 249

Glu Val Gln Leu Val Gln Ser Gly Ala Glu Val Lys Gln Pro Gly Ser
 1 5 10 15
 Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Gly Ser Phe Asn Ser Tyr
 20 25 30
 Thr Phe Ser Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Leu Glu Trp Met
 35 40 45
 Gly Trp Ile Ser Ala Tyr Asn Gly Gly Thr Asn Tyr Phe Ala Asn Tyr
 50 55 60
 Ala Leu Lys Phe Gln Gly Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr
 65 70 75 80
 Gly Thr Ala Tyr Met Glu Leu Arg Ser Leu Arg Ser Asp Asp Thr Ala
 85 90 95
 Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Val Arg Asp Ser Trp Ser His Glu Asp Tyr
 100 105 110
 Ser Tyr Tyr Tyr Tyr Met Asp Val Trp Gly Lys Gly Thr Thr Val Thr
 115 120 125
 Val Ser Ser
 130

5 <210> 250
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.218
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(118)
 <223> HCDR3
 <400> 250

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

Ser

5 <210> 251
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.219
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> HCDR3
 <400> 251

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

5 <210> 252
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.220
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> HCDR3
 <400> 252

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

5 <210> 253
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.221
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(110)
 <223> HCDR3
 <400> 253

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

<210> 254
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.222

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(55)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> HCDR3

<400> 254

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

5 <210> 255
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.223
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(106)
 <223> HCDR3
 <400> 255

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

5 <210> 256
 <211> 128
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.224
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(117)
 <223> HCDR3
 <400> 256

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

<210> 257
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.225

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(110)
 <223> HCDR3

<400> 257

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

5 <210> 258
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.226
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> HCDR3
 <400> 258

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

5 <210> 259
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.227
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(105)
 <223> HCDR3
 <400> 259

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

5 <210> 260
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.228
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> HCDR3
 <400> 260

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

5 <210> 261
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.229
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> HCDR3
 <400> 261

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

5 <210> 262
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.230
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(105)
 <223> HCDR3
 <400> 262

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

5 <210> 263
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.231
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> HCDR3
 <400> 263

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

5 <210> 264
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.232
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> HCDR3
 <400> 264

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

5 <210> 265
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.233

 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> HCDR3

 <400> 265

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

5 <210> 266
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.234
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(106)
 <223> HCDR3
 <400> 266

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

<210> 267
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.235

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> HCDR3

<400> 267

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

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

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

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

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

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

Ala Arg Glu Glu Ala Tyr Gly Asp Ala Phe Asp Ile Trp Gly Gln Gly
100 105 110

Thr Met Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 268
<211> 117
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

```
<220>  
<221> MISC_FEATURE  
<223> cadena pesada de clon XPA.15.236
```

```
<220>  
<221> MISC_FEATURE  
<222> (26)..(33)  
<223> HCDR1
```

```
<220>  
<221> MISC_FEATURE  
<222> (51)..(58)  
<223> HCDR2
```

```
<220>  
<221> MISC_FEATURE  
<222> (97)..(160)  
<223> HCDR3
```

<400> 268

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

5 <210> 269
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.237
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(110)
 <223> HCDR3
 <400> 269

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

<210> 270
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.238

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> HCDR3

<400> 270

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

5 <210> 271
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.239
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(57)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (96)..(114)
 <223> HCDR3
 <400> 271

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

5 <210> 272
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.240
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(57)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (96)..(114)
 <223> HCDR3
 <400> 272

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

<210> 273
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.241

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> HCDR3

<400> 273

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

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

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

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

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

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

Ala Lys Ala Arg Gly Val Val Ile Ile Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

<210> 274

<211> 125

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena pesada de clon XPA.15.242

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

15 <223> HCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(57)

20 <223> HCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (96)..(114)

25 <223> HCDR3

<400> 274

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

<210> 275
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.243

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> HCDR3

<400> 275

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

5 <210> 276
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.244
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(113)
 <223> HCDR3
 <400> 276

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

<210> 277
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.245

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> HCDR3

<400> 277

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

Ser Val Lys Val Ser Cys Lys Ala Ser Gly Tyr Ser Phe Ser Asp Tyr
20 25 30

Gly Ile Thr Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gly Pro Glu Trp Met
35 40 45

Gly Trp Ile Ser Gly Tyr Asn Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Gln Lys Phe
50 55 60

Gln Asp Arg Val Thr Met Thr Thr Asp Thr Ser Thr Ser Thr Ala Tyr
65 70 75 80

Met Glu Leu Arg Ser Leu Lys Ser Asp Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys
85 90 95

Ala Arg Ala Arg Gly Val Trp Met Phe Asp Asn Trp Gly Gln Gly Thr
100 105 110

Leu Val Thr Val Ser Ser
115

5 <210> 278
<211> 118
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

10 <220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena pesada de clon XPA.15.246

15 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> HCDR1

20 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(58)
<223> HCDR2

25 <220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (97)..(107)
<223> HCDR3

<400> 278

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

5 <210> 279
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.247
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> HCDR3
 <400> 279

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

5 <210> 280
 <211> 117
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.248
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(106)
 <223> HCDR3
 <400> 280

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

<210> 281
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.249

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(110)
 <223> HCDR3

<400> 281

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

<210> 282

<211> 120

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena pesada de clon XPA.15.250

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

15 <223> HCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(58)

20 <223> HCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (97)..(109)

25 <223> HCDR3

<400> 282

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

115

120

5 <210> 283
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.272
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> HCDR3
 <400> 283

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

5 <210> 284
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.275
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> HCDR3
 <400> 284

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

5 <210> 285
 <211> 121
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.282
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(110)
 <223> HCDR3
 <400> 285

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

<210> 286
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.284

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(34)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(108)
 <223> HCDR3

<400> 286

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

5 <210> 287
 <211> 125
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.293
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (52)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(115)
 <223> HCDR3
 <400> 287

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

<210> 288
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.006

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> HCDR3

<400> 288

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

<210> 289
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.009

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> HCDR3

<400> 289

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

<210> 290

<211> 117

<212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

<223> cadena pesada de clon XPA.15.019

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

<223> HCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(57)

<223> HCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (96) . .(106)

<223> HCDR3

<400> 290

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

5 <210> 291
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.043
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(112)
 <223> HCDR3
 <400> 291

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

5 <210> 292
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.062
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> HCDR3
 <400> 292

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

5 <210> 293
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.085
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> HCDR3
 <400> 293

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

5 <210> 294
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.099
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> HCDR3
 <400> 294

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

5 <210> 295
 <211> 119
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.141
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(106)
 <223> HCDR3
 <400> 295

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

5 <210> 296
 <211> 123
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.142
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(112)
 <223> HCDR3
 <400> 296

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

5 <210> 297
 <211> 129
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.144
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(118)
 <223> HCDR3
 <400> 297

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

Ser

5 <210> 298
 <211> 118
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.146
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(57)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(107)
 <223> HCDR2
 <400> 298

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

5 <210> 299
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.154
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> HCDR3
 <400> 299

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

<210> 300
 <211> 120
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.155

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2

<220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (97)..(109)
 <223> HCDR3

<400> 300

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

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

<210> 301

<211> 121

5 <212> PRT

<213> *Homo sapiens*

<220>

<221> MISC_FEATURE

10 <223> cadena pesada de clon XPA.15.158

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (26)..(33)

15 <223> HCDR1

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (51)..(58)

20 <223> HCDR2

<220>

<221> MISC_FEATURE

<222> (97)..(110)

25 <223> HCDR3

<400> 301

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

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

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

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

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

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

Ala Ala Pro Thr Val Pro Tyr Tyr Tyr Tyr Gly Met Asp Val Trp Gly
100 105 110

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
115 120

<210> 302
<211> 117
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<220>
<221> MISC_FEATURE
<223> cadena pesada de clon XPA.15.165

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (26)..(33)
<223> HCDR1

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (51)..(56)
<223> HCDR2

<220>
<221> MISC_FEATURE
<222> (96)..(107)
<223> HCDR3

<400> 302

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

5 <210> 303
 <211> 124
 <212> PRT
 <213> *Homo sapiens*
 10 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <223> cadena pesada de clon XPA.15.196 revisada
 15 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (26)..(33)
 <223> HCDR1
 20 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (51)..(58)
 <223> HCDR2
 25 <220>
 <221> MISC_FEATURE
 <222> (99)..(113)
 <223> HCDR3
 <400> 303

ES 2 565 058 T3

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

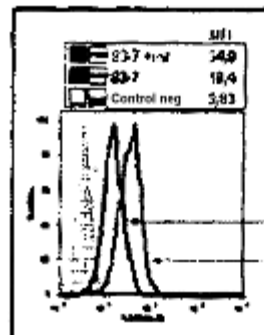
REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo monoclonal que es un antagonista alostérico del receptor de insulina y que se une a (i) el receptor de insulina o (ii) un complejo que comprende insulina y receptor de insulina, o tanto a (i) como a (ii), con una constante de equilibrio de disociación K_D de 10^{-5} M o menos o que es capaz de debilitar la afinidad de unión entre la insulina y el receptor de insulina en al menos 3 veces, opcionalmente hasta 1000 veces.
2. El anticuerpo de la reivindicación 1, donde el anticuerpo es capaz de debilitar la afinidad de unión entre dicha insulina y receptor de insulina de 3 veces a 500 veces.
3. El anticuerpo de la reivindicación 1, en el que la afinidad de unión es una cualquiera de K_A , K_D , la relación de la velocidad de asociación a la velocidad de disociación o la relación de la velocidad de disociación a la velocidad de asociación.
4. El anticuerpo de la reivindicación 1, en el que el anticuerpo aumenta la CE_{50} de la actividad de señalización de insulina de 2 veces a 1000 veces, opcionalmente en un ensayo de pAKT.
5. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde el anticuerpo comprende una región variable de cadena pesada seleccionada entre el grupo que consiste en las SEC ID N°: 279, 241, 258, 155, y 228 y una región variable de cadena ligera seleccionada entre el grupo que consiste en las SEC ID N°: 139, 103, 119, 8, y 89.
6. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde el anticuerpo comprende
 - (a) la región variable de cadena pesada de cualquiera de Ab081 (SEC ID N°: 279), Ab061 (SEC ID N°: 241), Ab070 (SEC ID N°: 258), Ab020 (SEC ID N°: 155), Ab052 (SEC ID N°: 228), Ab087 (SEC ID N°: 169), Ab019 (SEC ID N°: 160), Ab088 (SEC ID N°: 153), Ab089 (SEC ID N°: 154), Ab050 (SEC ID N°: 226), Ab055 (SEC ID N°: 231), Ab057 (SEC ID N°: 233), Ab063 (SEC ID N°: 244), Ab065 (SEC ID N°: 246), Ab072 (SEC ID N°: 260), Ab074 (SEC ID N°: 262), y la región variable de cadena ligera de cualquiera de Ab081 (SEC ID N°: 139), Ab061 (SEC ID N°: 103), Ab070 (SEC ID N°: 119), Ab020 (SEC ID N°: 8), Ab052 (SEC ID N°: 89), Ab087 (SEC ID N°: 18), Ab019 (SEC ID N°: 1), Ab088 (SEC ID N°: 2), Ab089 (SEC ID N°: 4), Ab050 (SEC ID N°: 87), Ab055 (SEC ID N°: 92), Ab057 (SEC ID N°: 94), Ab063 (SEC ID N°: 105), Ab065 (SEC ID N°: 107), Ab072 (SEC ID N°: 121), y Ab074 (SEC ID N°: 123), o
 - (b) tres CDR de cadena pesada de cualquiera de Ab081 (SEC ID N°: 279), Ab061 (SEC ID N°: 241), Ab070 (SEC ID N°: 258), Ab020 (SEC ID N°: 155), Ab052 (SEC ID N°: 228), Ab087 (SEC ID N°: 169), Ab019 (SEC ID N°: 160), Ab088 (SEC ID N°: 153), Ab089 (SEC ID N°: 154), Ab050 (SEC ID N°: 226), Ab055 (SEC ID N°: 231), Ab057 (SEC ID N°: 233), Ab063 (SEC ID N°: 244), Ab065 (SEC ID N°: 246), Ab072 (SEC ID N°: 260), Ab074 (SEC ID N°: 262), y tres CDR de cadena ligera de cualquiera de Ab081 (SEC ID N°: 139), Ab061 (SEC ID N°: 103), Ab070 (SEC ID N°: 119), Ab020 (SEC ID N°: 8), Ab052 (SEC ID N°: 89), Ab087 (SEC ID N°: 18), Ab019 (SEC ID N°: 1), Ab088 (SEC ID N°: 2), Ab089 (SEC ID N°: 4), Ab050 (SEC ID N°: 87), Ab055 (SEC ID N°: 92), Ab057 (SEC ID N°: 94), Ab063 (SEC ID N°: 105), Ab065 (SEC ID N°: 107), Ab072 (SEC ID N°: 121), y Ab074 (SEC ID N°: 123), incluyendo opcionalmente una o dos mutaciones en una cualquiera, dos o tres de tales CDR de cadena pesada o ligera, por ejemplo, una sustitución conservativa o no conservativa; o
 - (c) todas las seis CDR de cualquiera de Ab081 (SEC ID N°: 279, 139), Ab061 (SEC ID N°: 241, 103), Ab070 (SEC ID N°: 258, 119), Ab020 (SEC ID N°: 155, 8), Ab052 (SEC ID N°: 228, 89), Ab087 (SEC ID N°: 169, 18), Ab019 (SEC ID N°: 160, 1), Ab088 (SEC ID N°: 153, 2), Ab089 (SEC ID N°: 154, 4), Ab050 (SEC ID N°: 226, 87), Ab055 (SEC ID N°: 231, 92), Ab057 (SEC ID N°: 233, 94), Ab063 (SEC ID N°: 244, 105), Ab065 (SEC ID N°: 246, 107), Ab072 (SEC ID N°: 260, 121), y Ab074 (SEC ID N°: 262, 123).
7. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6 que muestra una competición mayor o igual al 70 % con uno cualquiera, dos, tres o todos los anticuerpos seleccionados entre el grupo que consiste en Ab061 (SEC ID N°: 241, 103), Ab074 (SEC ID N°: 262, 123), Ab081 (SEC ID N°: 279, 139), Ab020 (SEC ID N°: 155, 8), Ab019 (SEC ID N°: 160, 1), Ab087 (SEC ID N°: 169, 18), Ab088 (SEC ID N°: 2, 153) y Ab089 (SEC ID N°: 154, 4), opcionalmente en donde el anticuerpo se une al receptor o al complejo humanos y no al receptor o al complejo murinos.
8. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 que comprende al menos una CDR HCDR1, HCDR2 y HCDR3 de cadena pesada expuesta en las SEC ID N°: 151-303.
9. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8 que comprende una región variable de cadena pesada de las SEC ID N°: 151-303.
10. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 que comprende al menos una CDR LCDR1, LCDR2 o LCDR3 de cadena ligera expuesta en las SEC ID N°: 1-150.
11. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9 que comprende una región variable de cadena ligera de las SEC ID N°: 1-150.

12. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10, que además comprende una región constante de cadena pesada de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 humana.
- 5 13. El anticuerpo de la reivindicación 12, que además comprende una región constante de cadena ligera humana.
14. El anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde dicho anticuerpo es un anticuerpo humano.
- 10 15. El anticuerpo de una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 14, en donde el anticuerpo se conjuga a un resto hidrófobo.
16. Un método para preparar una composición farmacéutica estéril, que comprende añadir un diluyente farmacéuticamente aceptable estéril a un anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15.
- 15 17. Una composición estéril que comprende el anticuerpo de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 15 y un diluyente farmacéuticamente aceptable estéril.
18. El anticuerpo de acuerdo con las reivindicaciones 1 a 7 para su uso en un método para tratar una afección asociada a la hiperinsulinemia o al exceso de señalización de insulina, donde en dicho método el anticuerpo se administra en una cantidad eficaz para tratar la hipoglucemia o la sensibilidad a la insulina.
- 20 19. El anticuerpo para su uso de acuerdo con la reivindicación 18, donde la afección se selecciona entre el grupo que consiste en cáncer, insulinoma, sarcoma de Kaposi, sobredosis de insulina, hipoglucemia, nesidioblastosis (enfermedad difusa de KATP-H1, enfermedad focal de KATP-H1, o "PHHI"), GDH-H1 (síndrome de hiperinsulinismo/hiperamoniemia (HI/HA), hipoglucemia sensible a leucina o hipoglucemia sensible a diazóxido), síndrome de desregulación de células de islote, hipoglucemia idiopática de la infancia, hipoglucemia hiperinsulinémica persistente de la infancia (PHHI), hiperinsulinismo congénito, hipoglucemia debido a insuficiencia renal (aguda o crónica), e hipoglucemia debida a enfermedad renal crónica.
- 25 20. El anticuerpo de la reivindicación 1 que comprende tres CDR de cadena pesada expuestas en las SEC ID N°: 279, 258 o 241 y tres CDR de cadena ligera expuestas en las SEC ID N°: 139, 119 o 103.
- 30 21. El anticuerpo de la reivindicación 20, en el que la cadena pesada variable se expone en las SEC ID N°: 279, 258 o 241 y la cadena ligera variable se expone en las SEC ID N°: 139, 119 o 103.
- 35 22. El anticuerpo de la reivindicación 20 que comprende tres CDR de cadena pesada expuestas en la SEC ID N°: 279 y tres CDR de cadena ligera expuestas en la SEC ID N°: 139.
- 40 23. El anticuerpo de la reivindicación 22, en el que la cadena pesada variable se expone en la SEC ID N°: 279 y la cadena ligera variable se expone en la SEC ID N°: 139.

Figura 1

control positivo control (Acm 83,7)

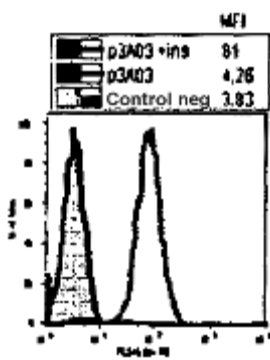


Unión de fondo

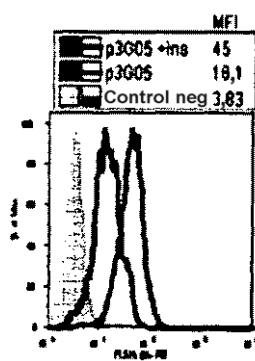
Unión a receptor libre

Unión a complejo INSR/INS

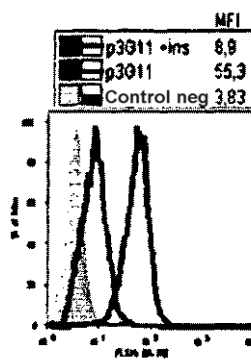
Se une exclusivamente
a complejo INS/INSR



Se une preferentemente
al complejo INS/INSR



Se une
preferentemente
a INSR



Se une igualmente a
INSR y al complejo de
INS/INSR

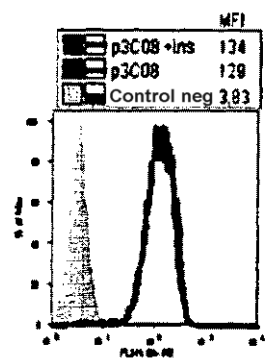
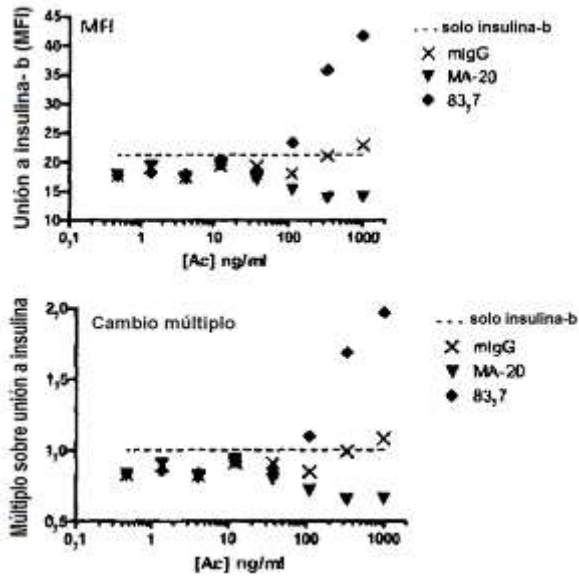


Figura 2

Unión de 10 nM de insulina biotinilada a células IM9
en tampón PBS/BSA $\pm$ Ac



Unión de 1 nM de insulina biotinilada a células IM9
en tampón PBS/BSA $\pm$ Ac

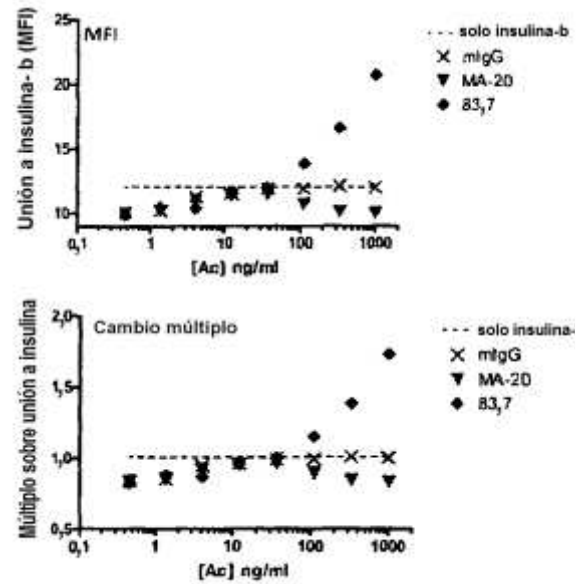


Figura 3

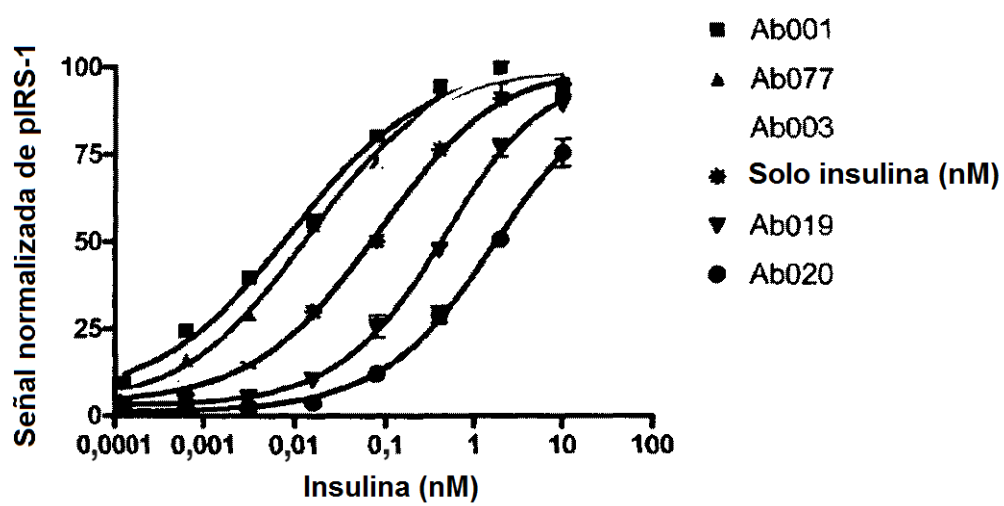


Figura 4

Figura 4A. Modulador positivo

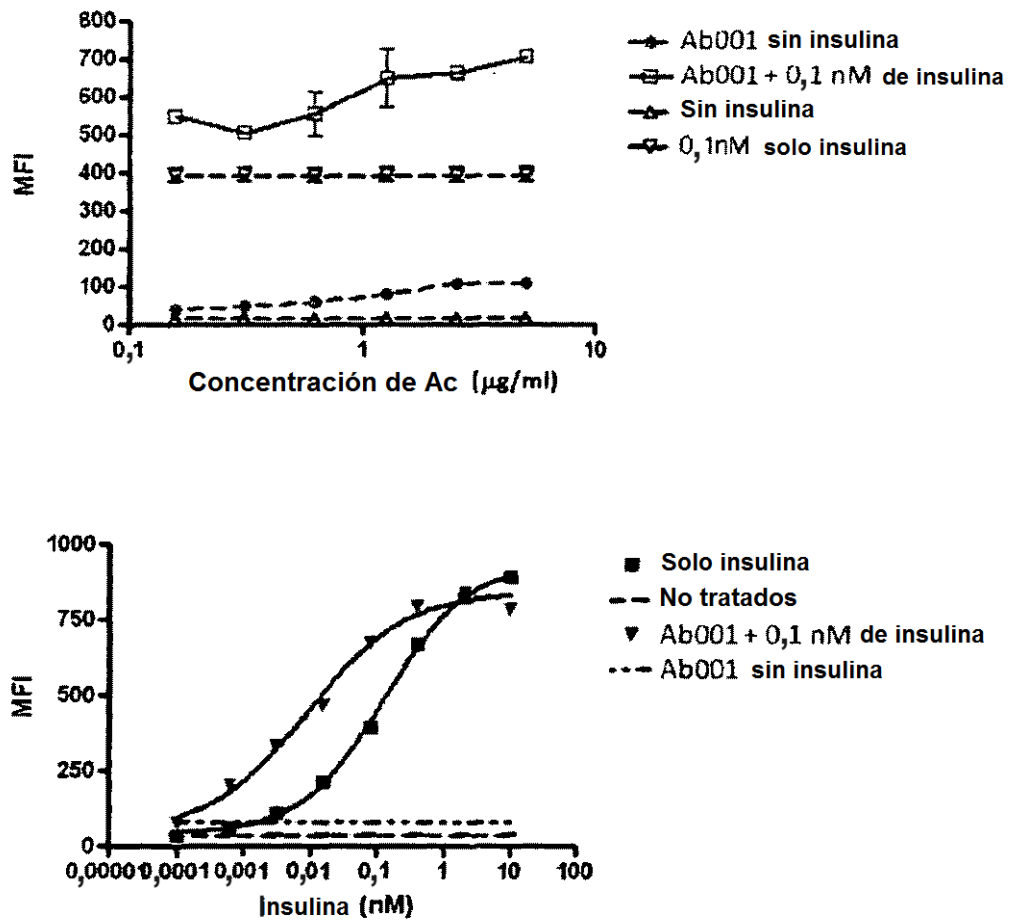


Figura 4B. Modulador positivo con agonismo significativo

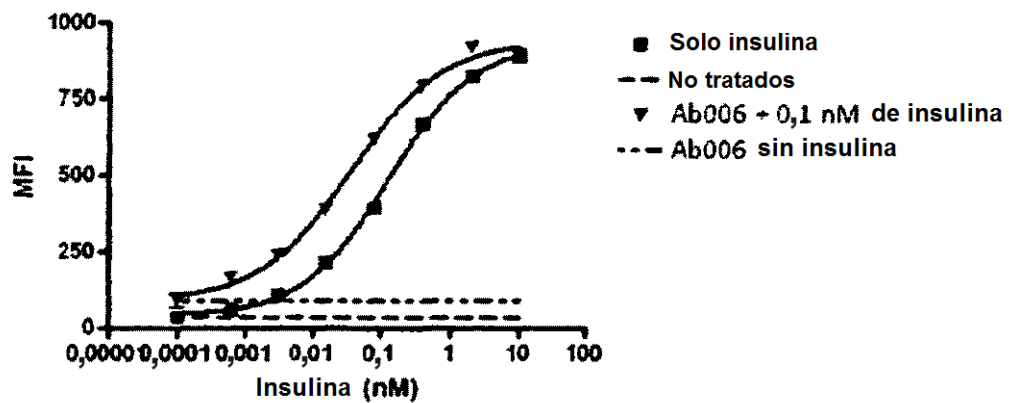
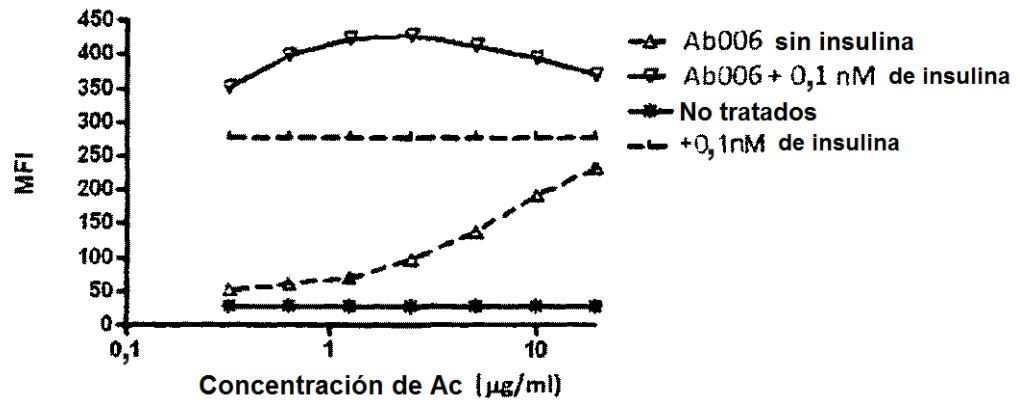


Figura 4C. No modulador

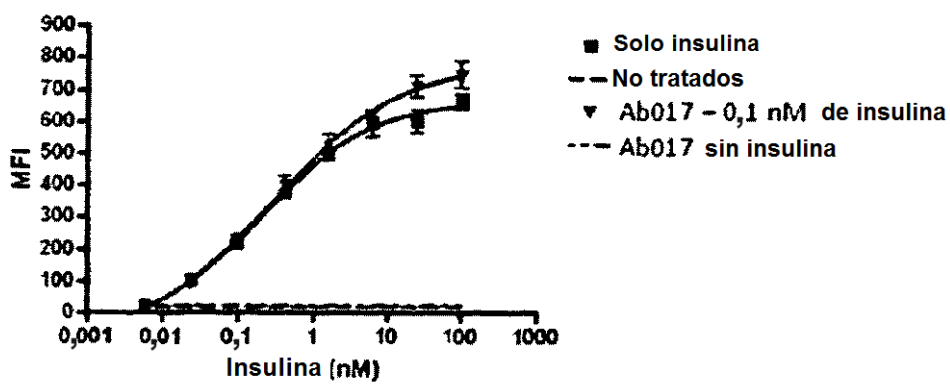
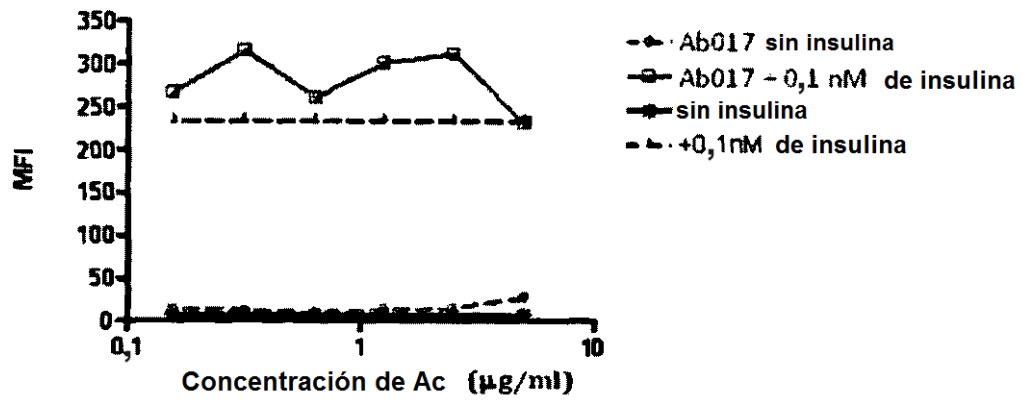


Figura 4D. Ac agonistas

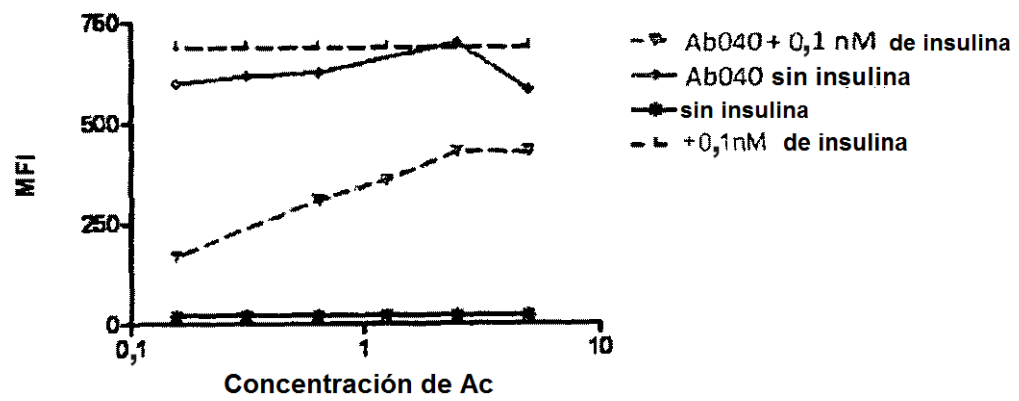
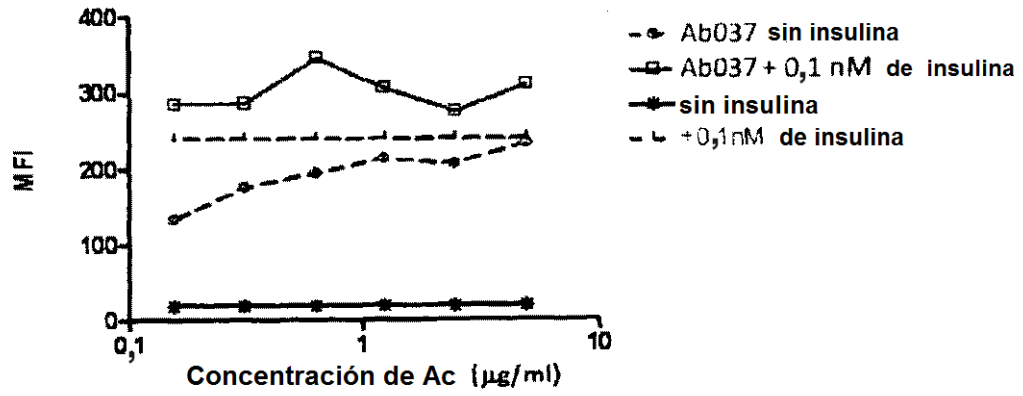


Figura 4E. Modulador negativo

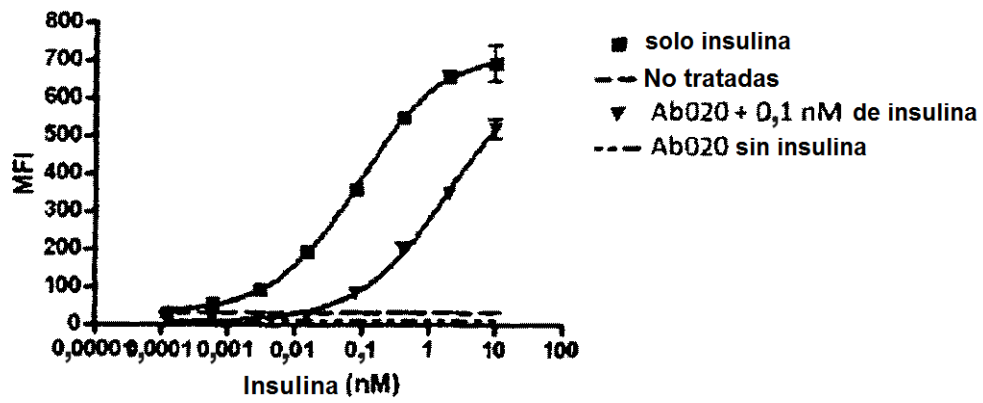
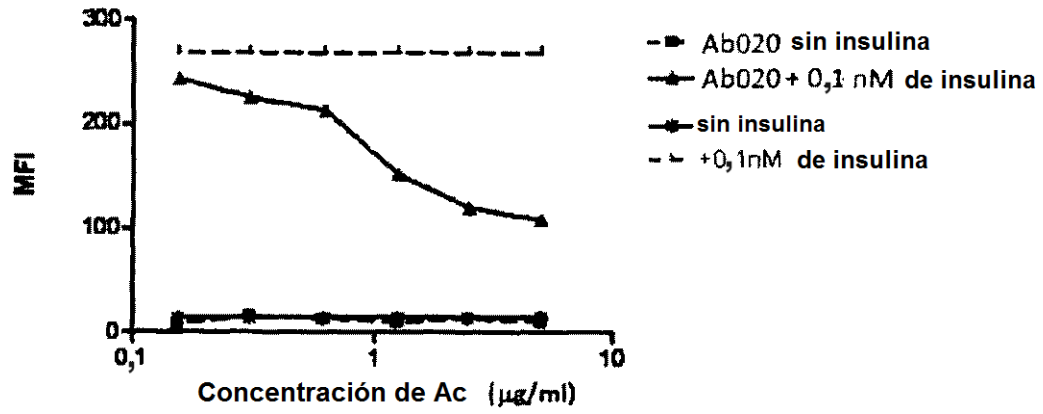


Figura 5

Ac	Tipo de Ac	[Ac] ($\mu\text{g/ml}$)	CE50 de insulina (nM)		Cambio múltiplo en CE50 de insulina			Propiedad de Ac
			solo insulina	Insulina + anticuerpo	-CE50 de Ac/ +CE50 de Ac	+CE50 de Ac / -CE50 de Ac	Cambio absoluto	
Ab001	IgG2	5,00	0,11	0,0048	23,32	0,04	23,32	Ac con modulación positiva significativa
Ab002	IgG2	2,50	0,12	0,0166	7,32	0,14	7,32	
Ab003	IgG2	2,25	0,12	0,0171	7,11	0,14	7,11	
Ab004	IgG2	5,00	0,13	0,0239	5,34	0,19	5,34	
Ab005	Fab	2,50	0,08	0,0188	4,48	0,22	4,48	
Ab006	IgG2	1,25	0,13	0,0367	3,47	0,29	3,47	
Ab007	IgG2	5,00	0,11	0,0346	3,22	0,31	3,22	
Ab008	Fab	0,63	0,08	0,0270	3,11	0,32	3,11	
Ab009	IgG2	5,00	0,13	0,0461	2,77	0,36	2,77	
Ab010	IgG2	2,50	0,12	0,0463	2,62	0,38	2,62	
Ab011	IgG2	2,50	0,13	0,0719	1,78	0,56	1,78	Ac sin modulación significativa
Ab012	IgG2	2,50	0,08	0,0504	1,67	0,60	1,67	
Ab013	IgG2	1,25	0,08	0,0540	1,56	0,64	1,56	
Ab014	IgG2	5,00	0,11	0,0984	1,13	0,88	1,13	
Ab015	IgG2	1,25	0,20	0,2450	0,82	1,23	1,23	
Ab016	IgG2	1,25	0,20	0,2714	0,74	1,36	1,36	
Ab017	IgG2	2,50	0,20	0,2747	0,73	1,37	1,37	
Ab018	IgG2	5,00	0,09	0,2969	0,29	3,48	3,48	Ac con modulación negativa significativa
Ab019	Fab	5,00	0,09	0,4527	0,19	5,31	5,31	
Ab020	IgG2	5,00	0,09	1,8570	0,05	21,79	21,79	

Figura 6

Figura 6A. Modulador positivo con agonismo muy bajo

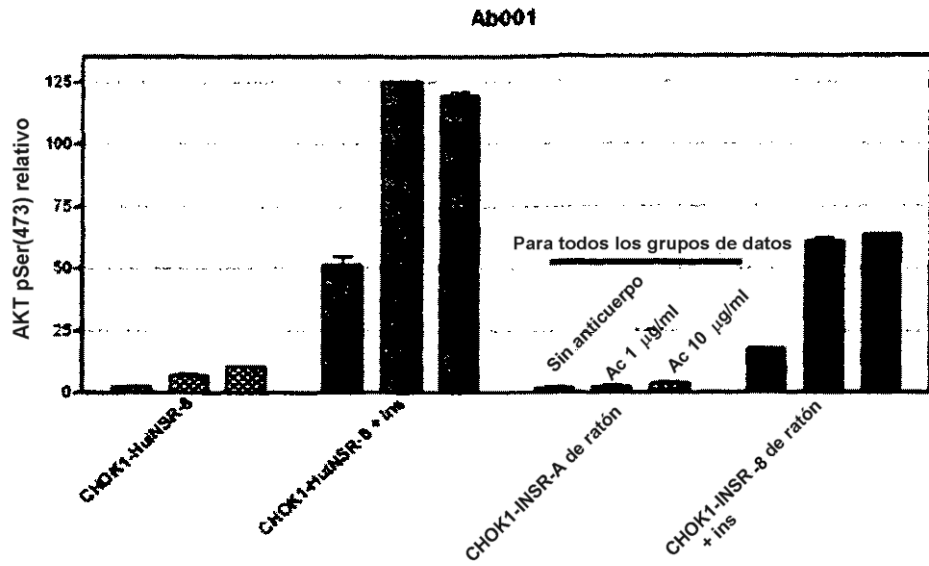


Figura 6B. Modulador positivo con agonismo

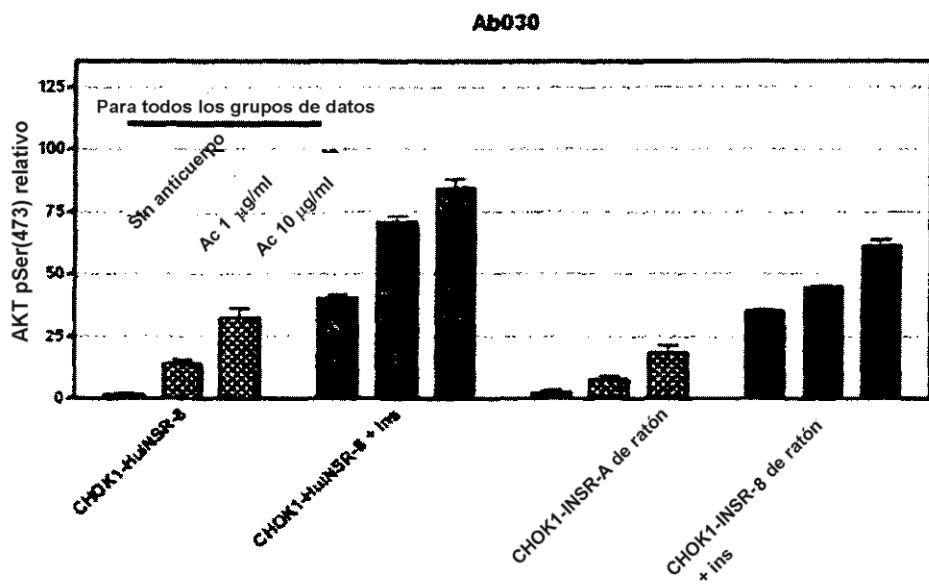


Figura 6C. Ac agonistas

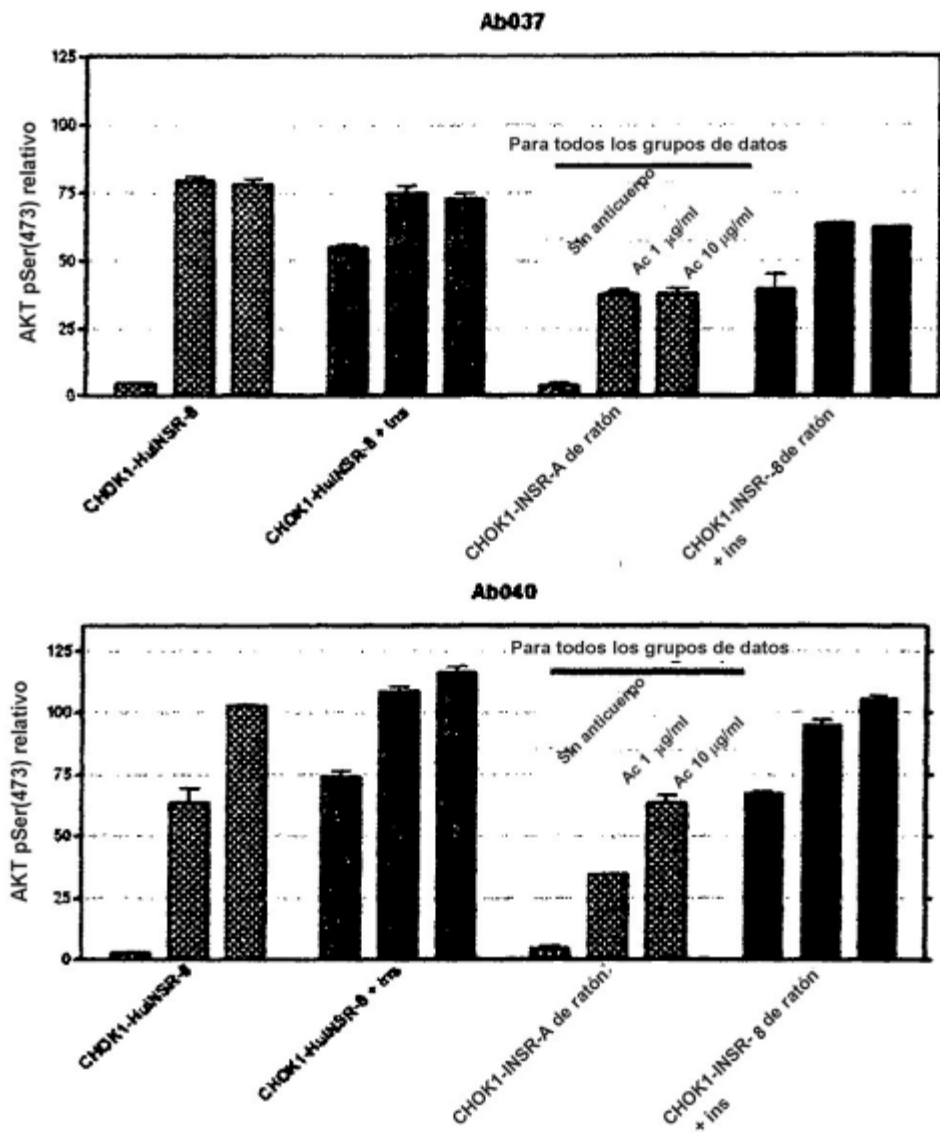


Figura 6D. 83-7

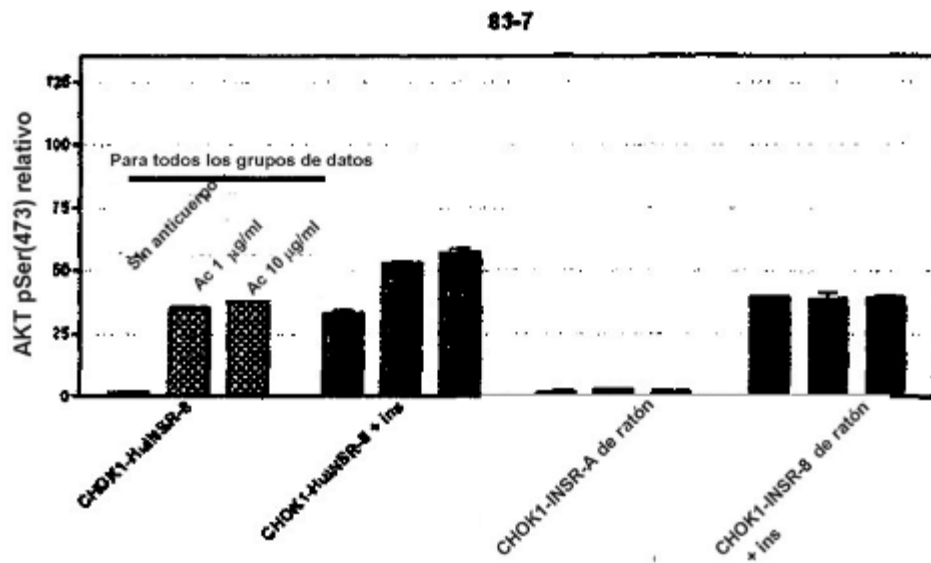


Figura 6E. Respuesta de insulina y de fondo en ausencia de anticuerpo.

Respuesta de insulina

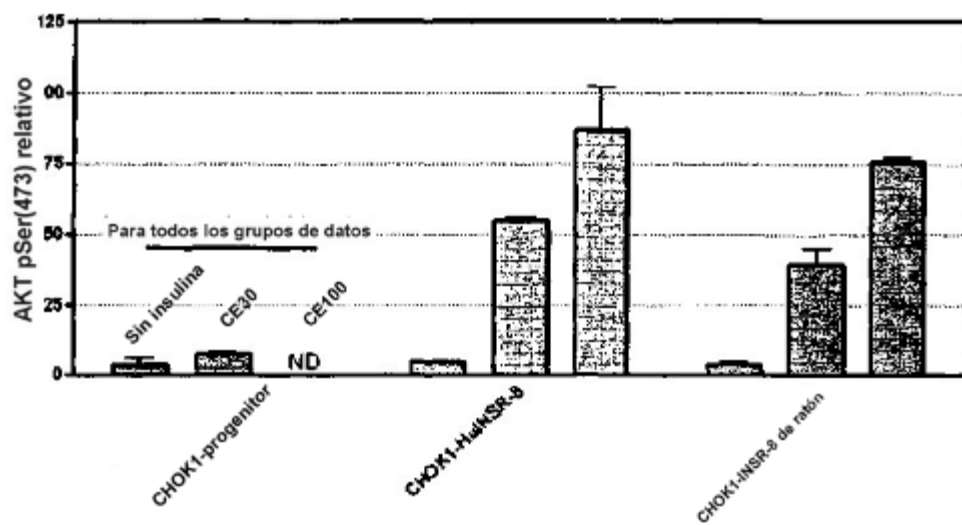


Figura 7

Clase de agonismo	Anticuerpo	Agonista de INSR humano por TIRS-1	Agonista de INSR humano por pAkt	Agonista de INSR de ratón por pAkt	Reactividad cruzada con INSR de ratón mediante FACS	Reactividad cruzada con INSR de ratón por pAkt
Ac con agonismo débil o muy débil	Ab021	sí	nd	nd	nd	nd
	Ab022	sí	nd	nd	nd	nd
	Ab023	sí	nd	nd	nd	nd
	Ab024	sí	nd	nd	no	nd
	Ab025	sí	nd	nd	no	nd
	Ab026	sí	nd	nd	no	nd
	Ab027	sí	nd	nd	no	nd
	Ab028	sí	nd	nd	no	nd
	AbO 13	sí	nd	nd	no	nd
	AbOI1	sí	nd	nd	sí	nd
	AbOO1	sí	sí	no	sí	sí
	AbO 15	sí	sí	no	no	no
	Ab002	sí	sí	no	no	no
Ac con agonismo moderado	Ab029	sí	nd	nd	nd	nd
	AbO 17	sí	sí	no	sí	no
	Ab030	sí	sí	sí	sí	sí
	Ab031'	sí	nd	nd	no	nd
	Ab009	sí	sí	sí	sí	sí
	Ab032	sí	sí	sí	sí	sí
	AbO 18	sí	nd	nd	sí	nd
	Ab033	sí	nd	nd	sí	nd
	AbO 12	sí	sí	no	no	sí
	AbO 14	sí	sí	sí	sí	sí
	Ab034	sí	nd	nd	nd	nd
	AbOI0GI	sí	sí	no	no	no
	AbOI0G2	sí	sí	no	sí	sí
	Ab003	sí	nd	nd	nd	nd
Ac con fuerte agonismo	Ab006	sí	sí	sí	sí	sí
	Ab035	sí	nd	nd	no	nd
	Ab036	sí	sí	sí	sí	sí
	Ab037	sí	sí	sí	sí	sí
	Ab038	sí	sí	no	sí	no
	Ab039	sí	sí	sí	sí	sí
	Ab040	sí	sí	sí	sí	sí
	Ab041	sí	nd	nd	nd	nd
	Ab042	sí	nd	nd	no	nd
	Ab043	sí	sí	sí	sí	sí

<i>Clase de agonismo</i>	<i>Anticuerpo</i>	<i>Agonista de INSR humano por TIRS-1</i>	<i>Agonista de INSR humano por pAkt</i>	<i>Agonista de INSR de ratón por pAkt</i>	<i>Reactividad cruza con INSR de ratón mediante FACS</i>	<i>Reactividad cruzada con INSR de ratón por pAkt</i>
	Ab044	sí	nd	nd	sí	nd
	Ab045	sí	nd	nd	sí	nd
	Ab046	sí	sí	sí	sí	sí
	Ab047	sí	nd	nd	no	nd
	Ab048	sí	sí	no	sí	no
	Ab049	sí	sí	no	no	no

Nd = no determinado

Figura 7 (continuación)

Figura 8

Figura 8 A

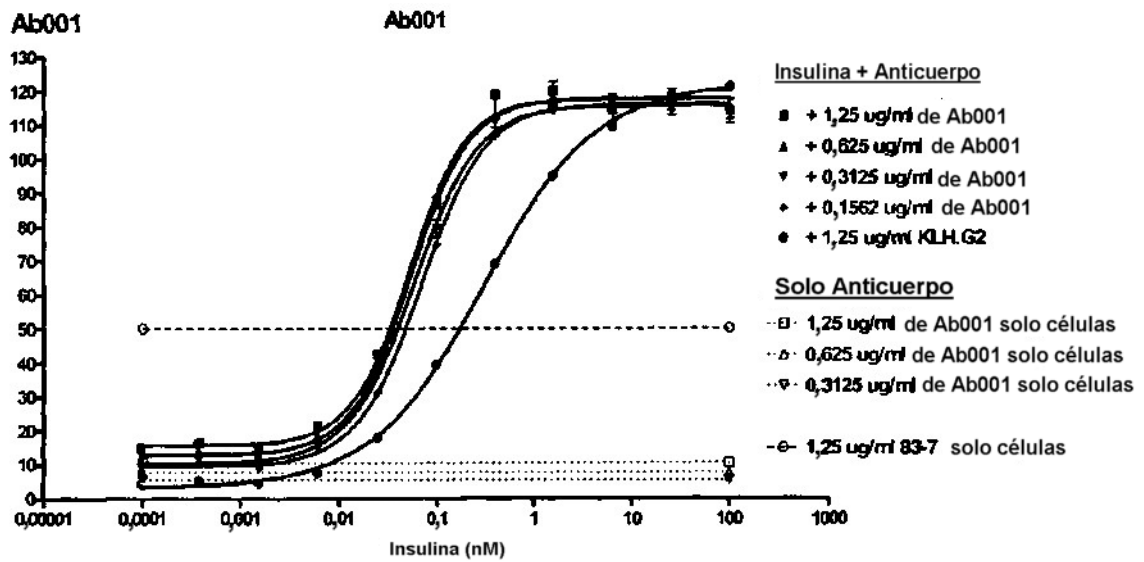


Figura 8B

Concentración de Ac (μg/ml)	PEDNIENTE DE HILL	CE50 (pM)	Cambio múltiplo en CE50
1,25Ab001	1,49	51	5,9
0,62 Ab001	1,44	53	5,7
0,31 Ab001	1,32	57	5,3
0,15 Ab001	1,33	68	4,4
1,25 anti-KLH	0,76	301	

Figura 9

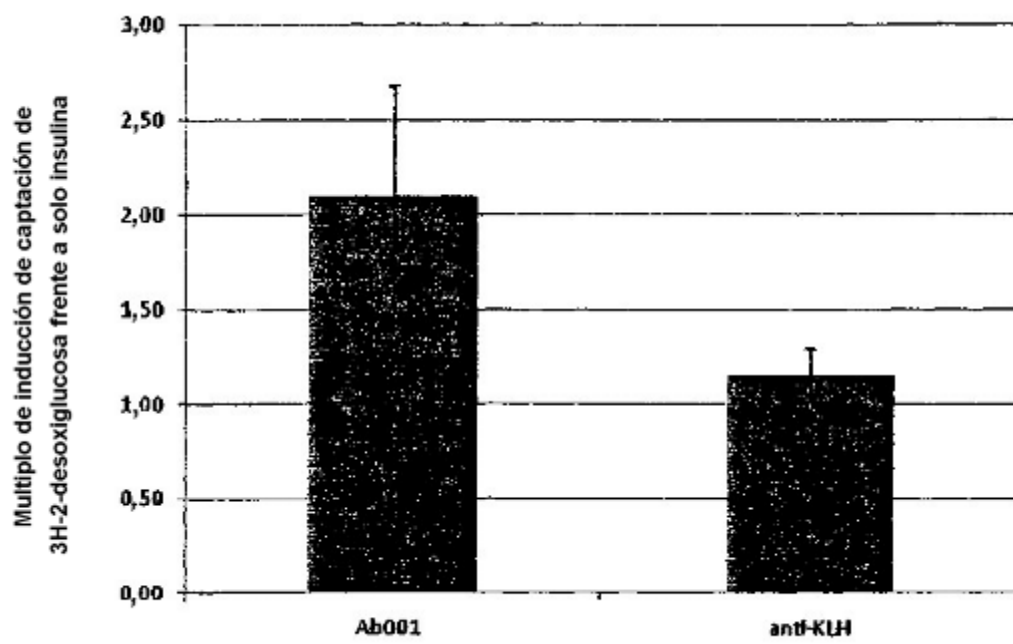
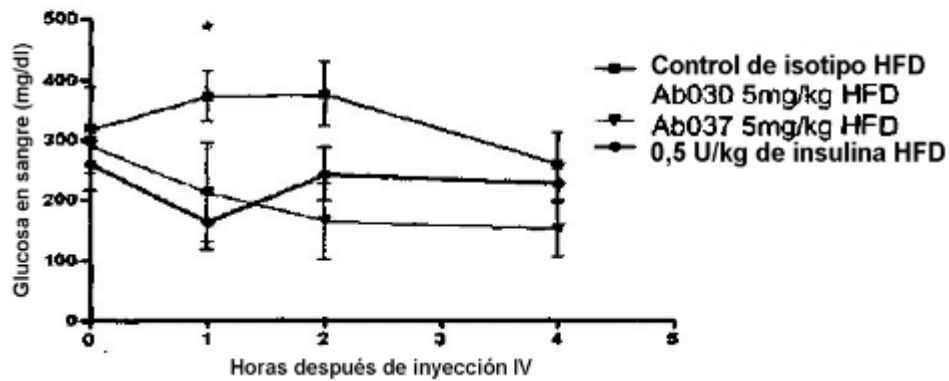


Figura 10

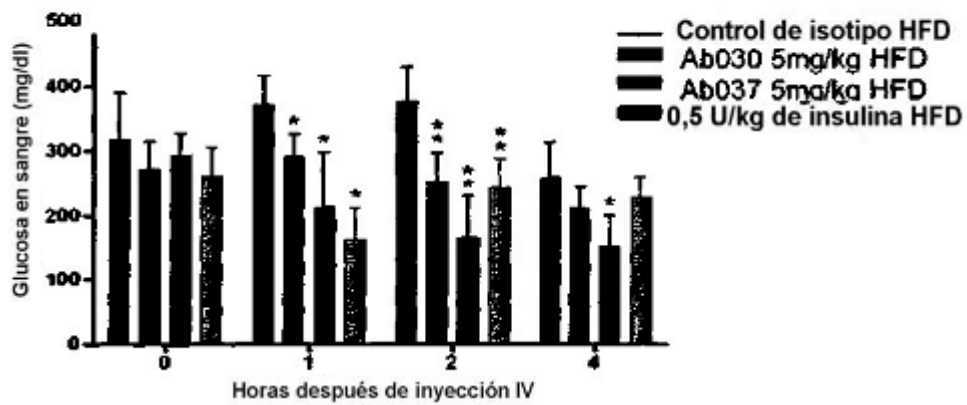
Niveles de glucosa en sangre en ratones DIO tratados con anticuerpos anti-INSR agonistas parciales.

A.



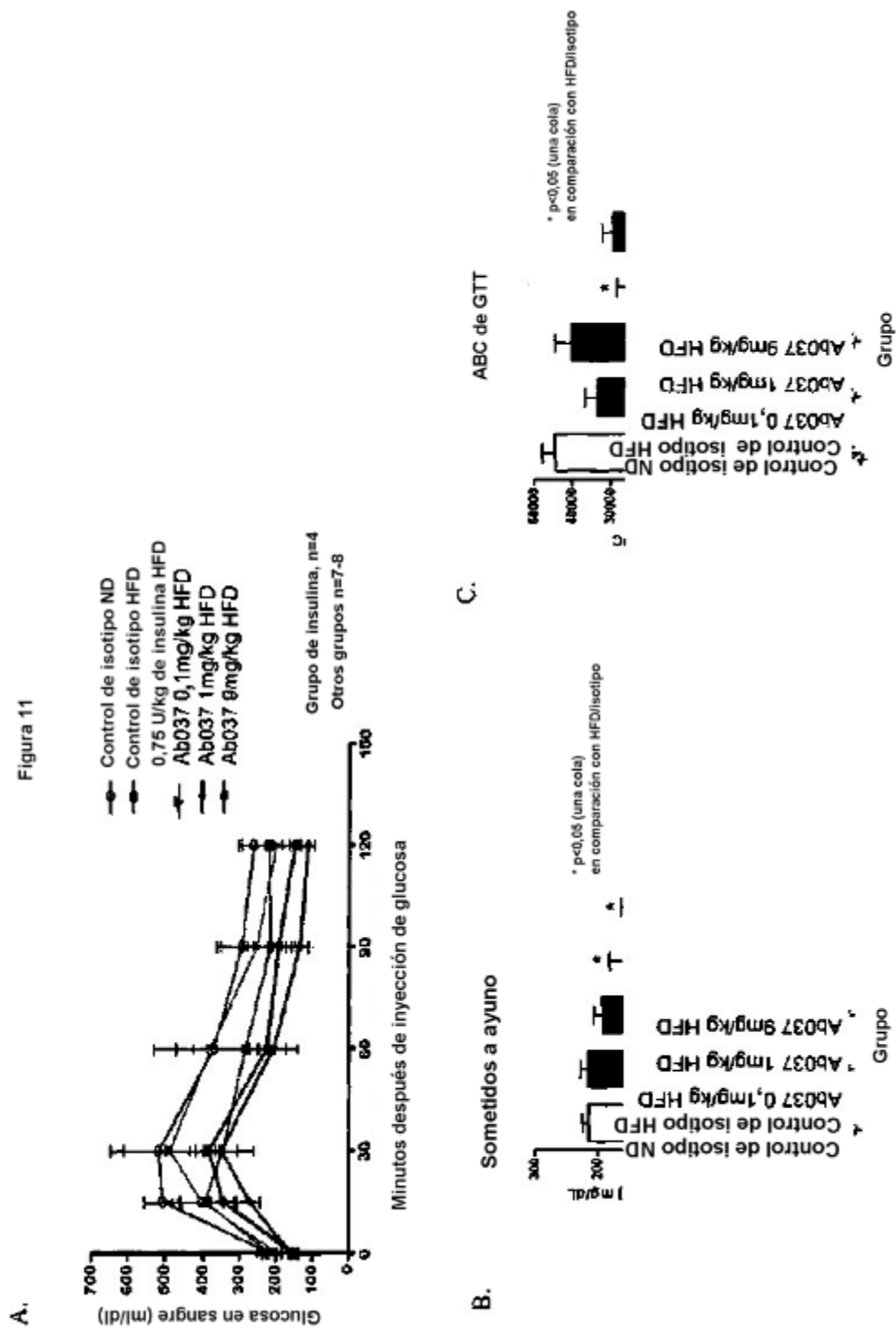
* $p < 0,01$ (una cola) ND/isotipo comparado con HFD/isotipo

B.

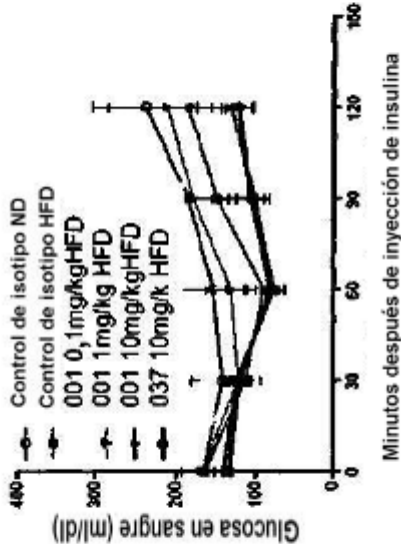


* $p \leq 0,01$ (dos colas) en comparación con HFD/isotipo

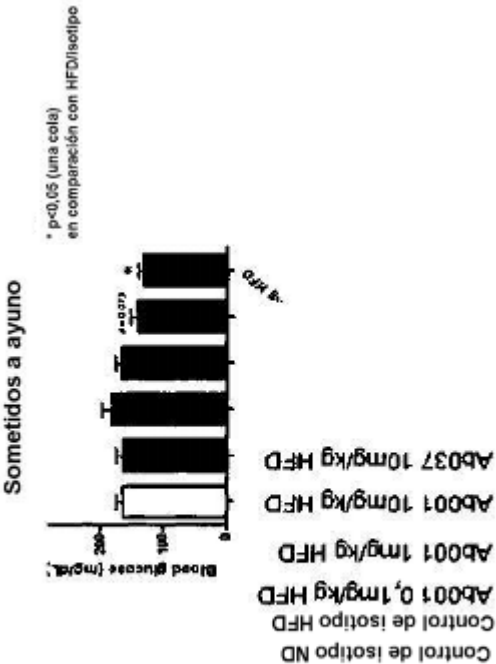
** $p < 0,01$ (dos colas) en comparación con HFD/isotipo



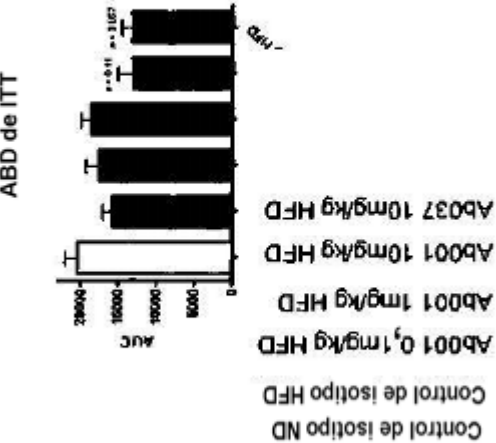
A. **Figura 12**



B.



C.



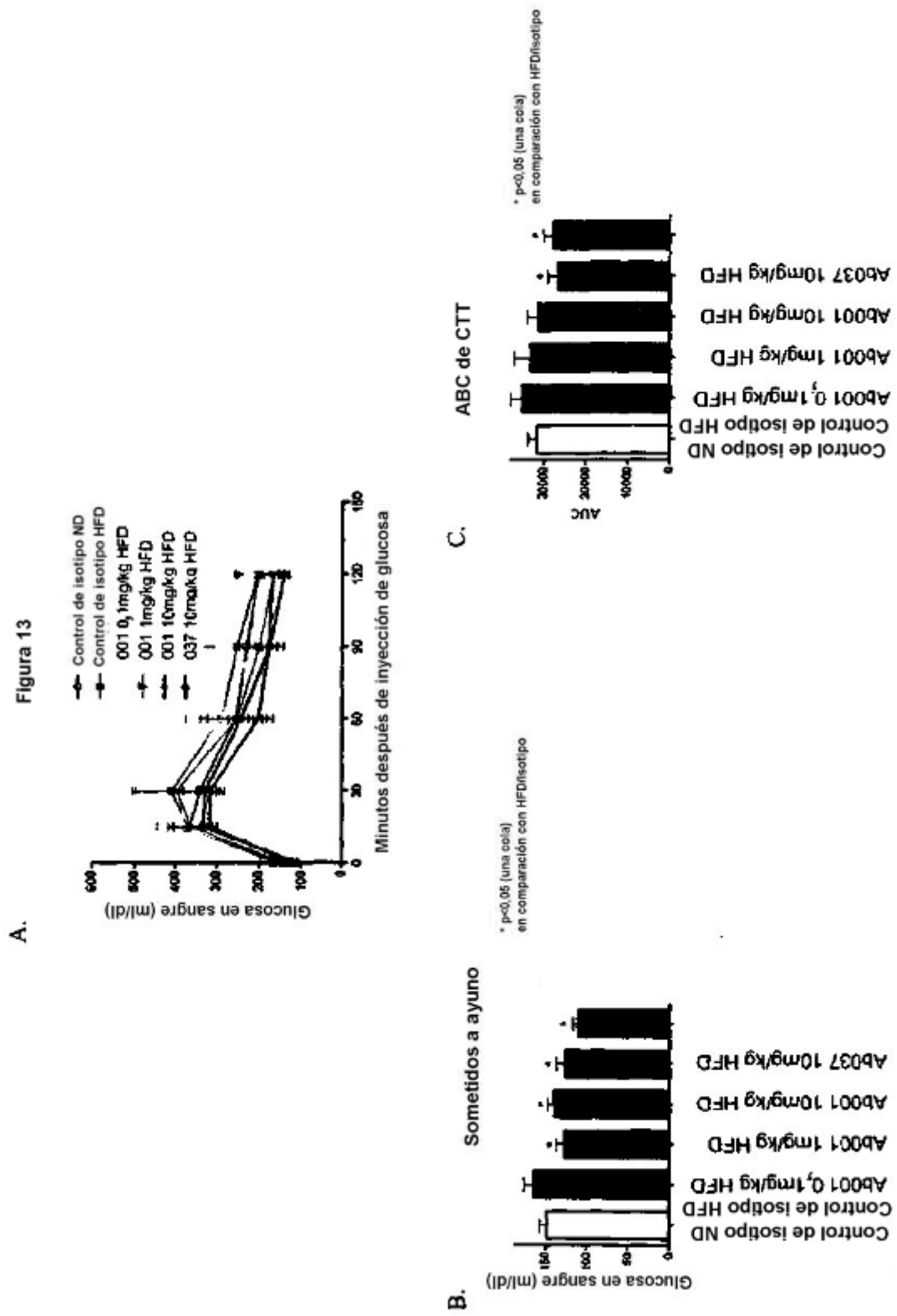


Figura 14

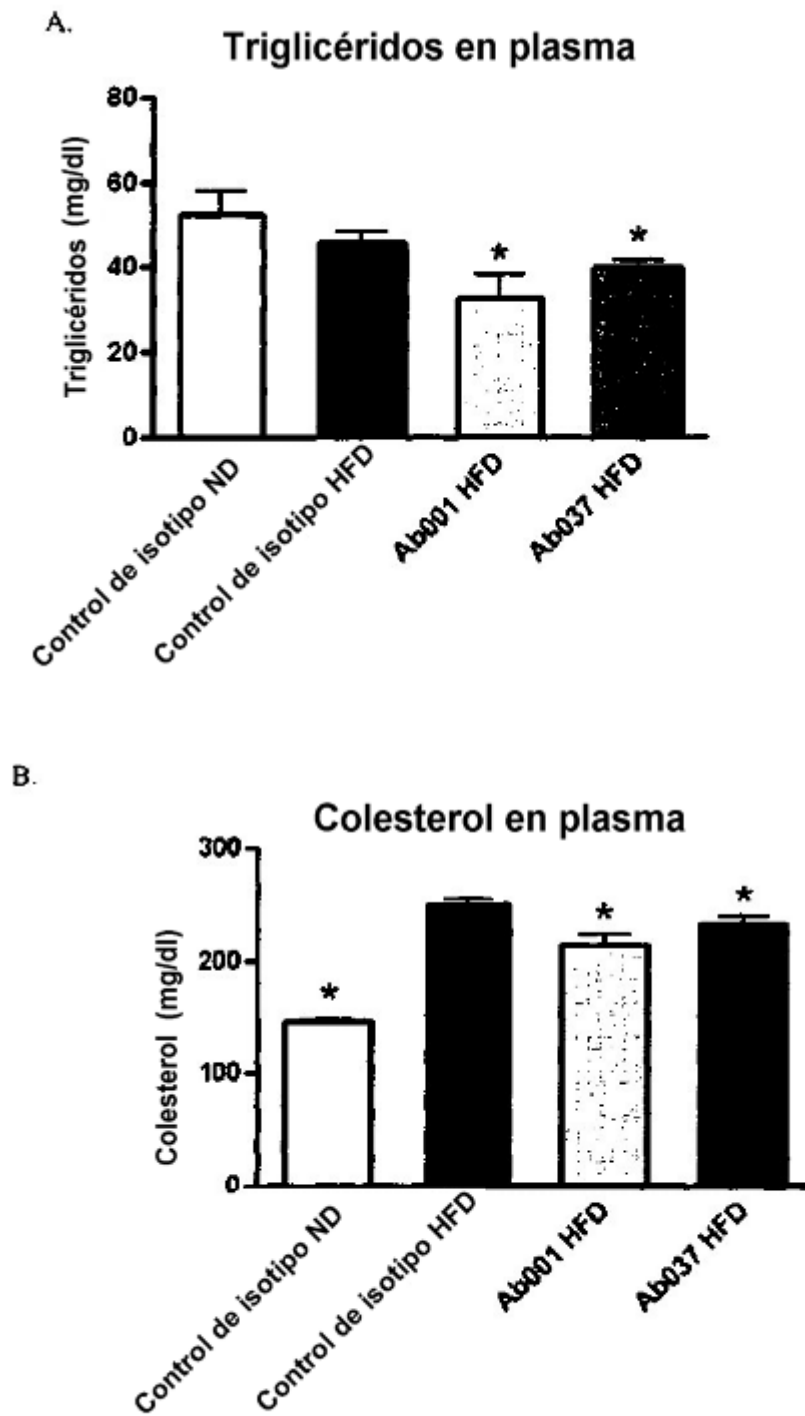


Figura 15

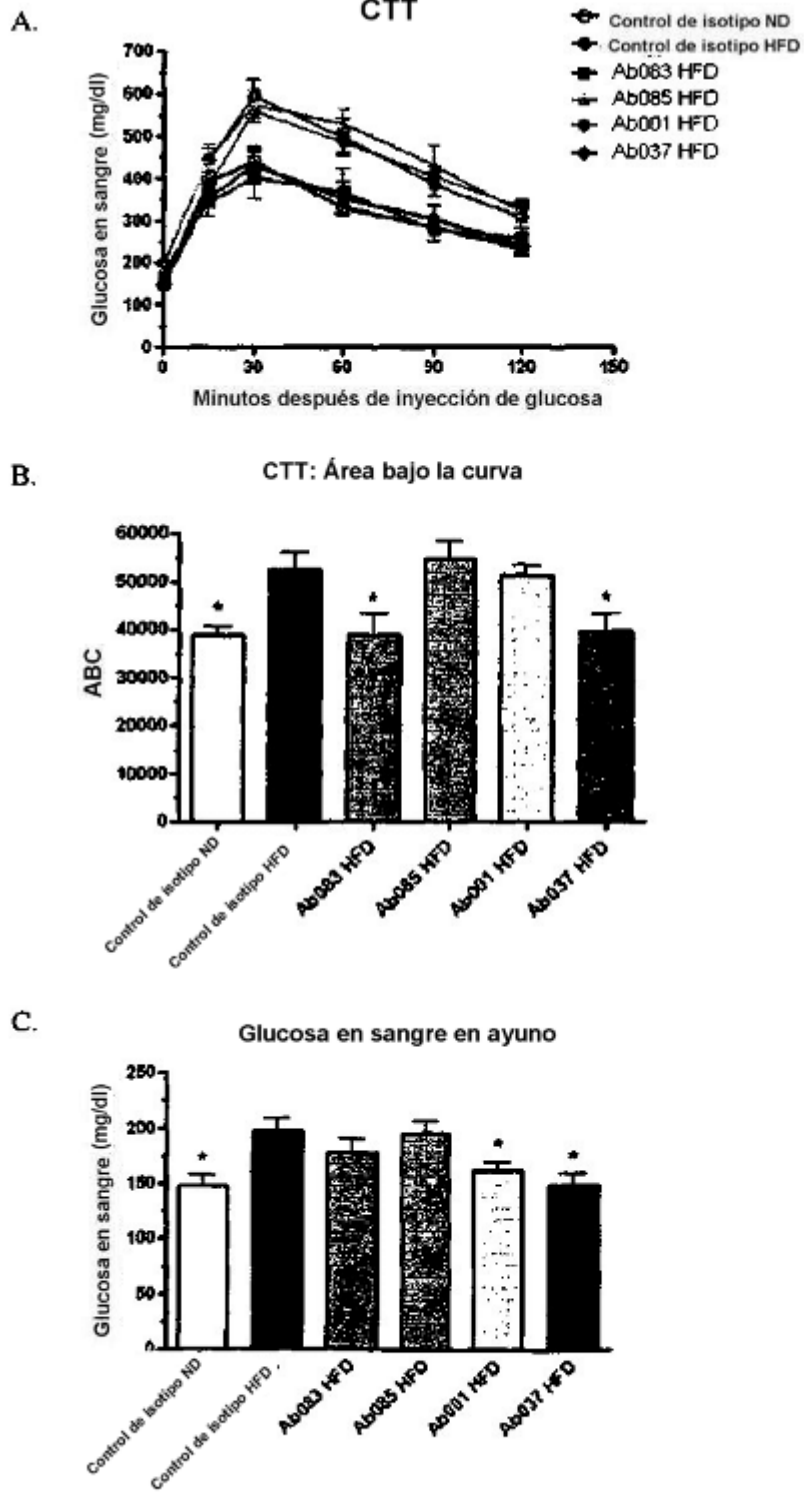


Figura 16

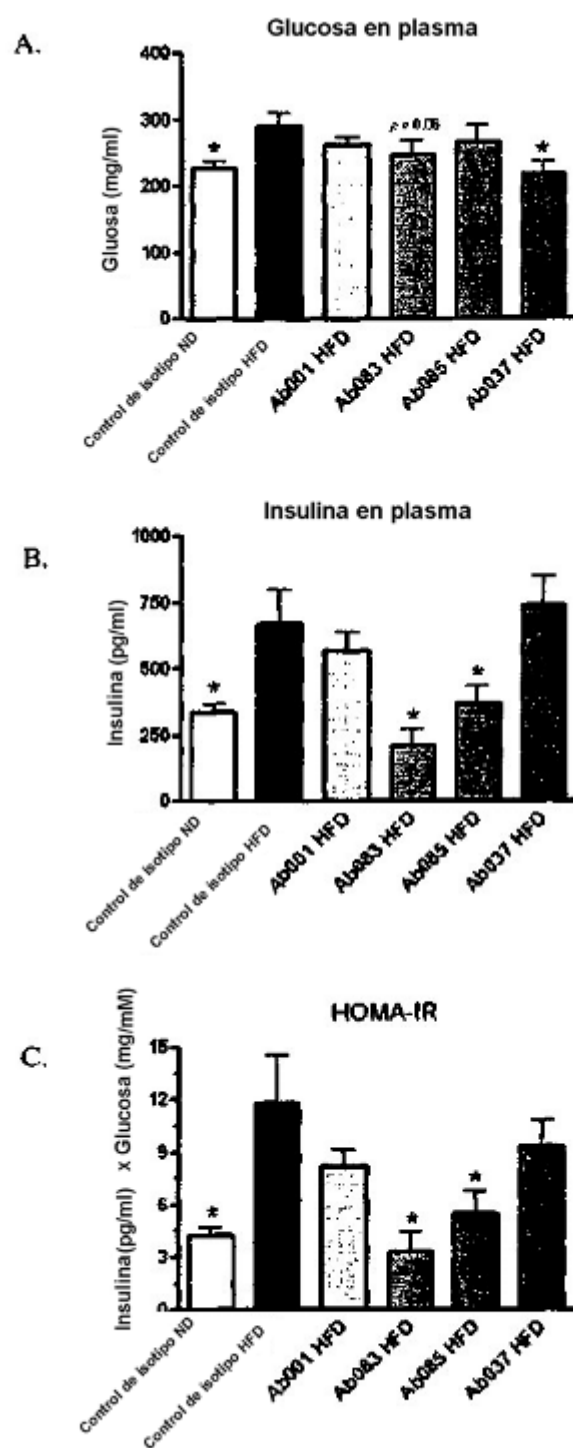


Figura 16 (Continuación)

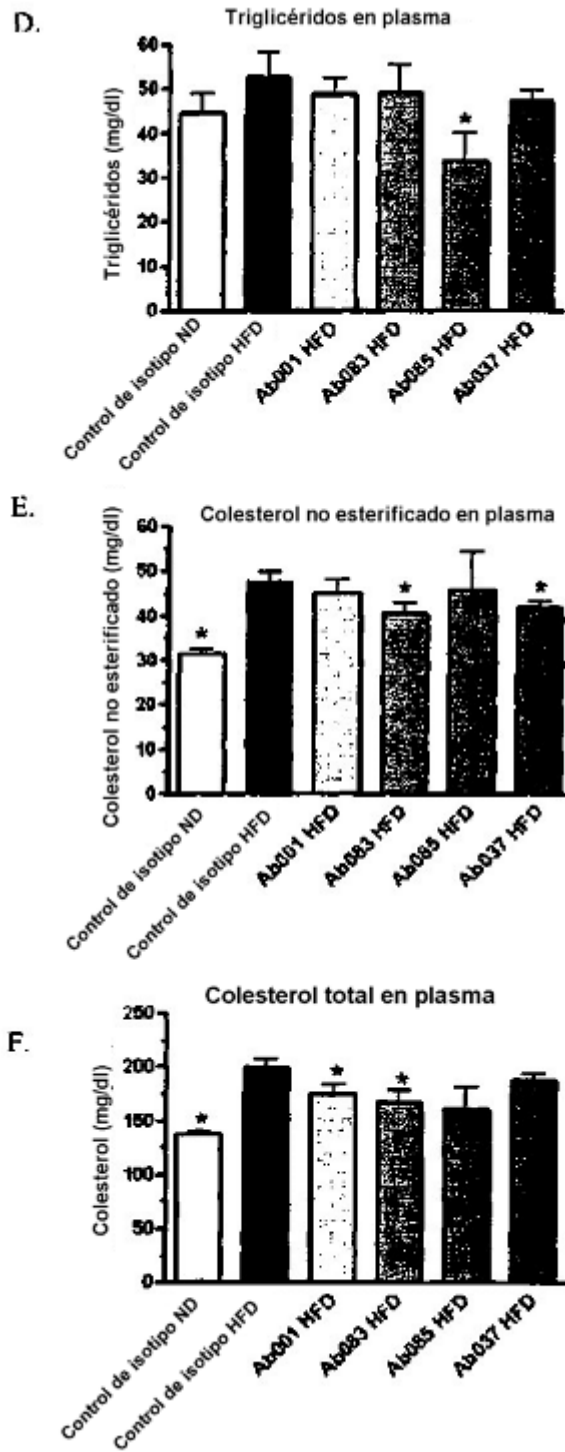


Figura 16 (continuación)

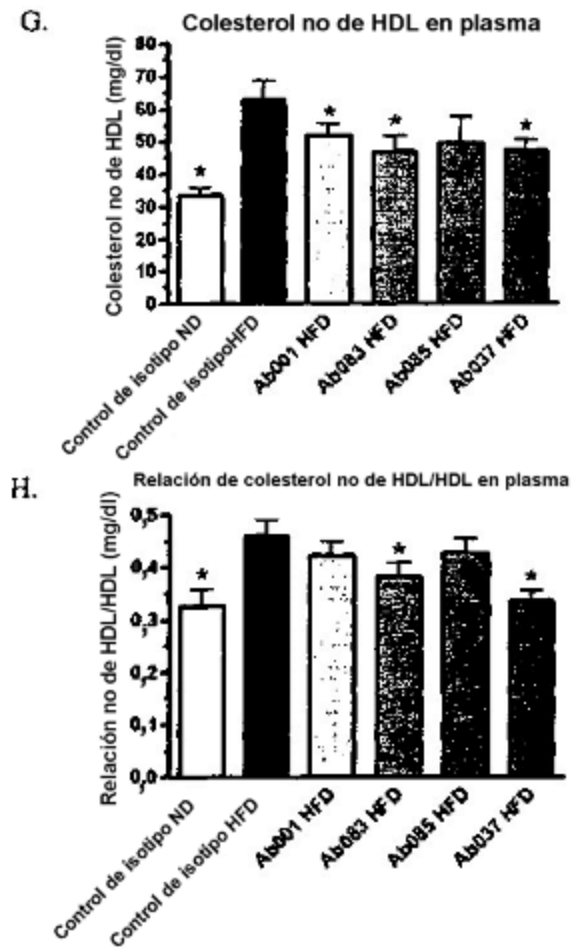


Figura 17

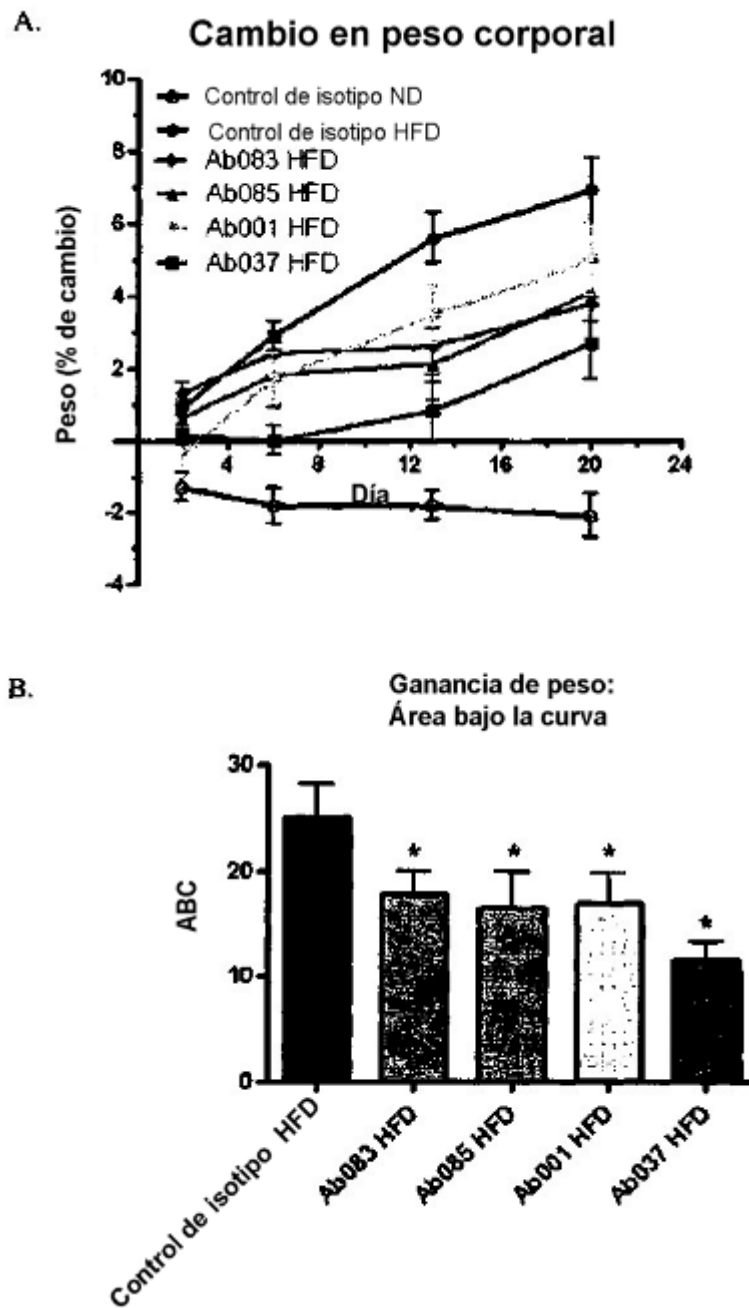


Figura 18

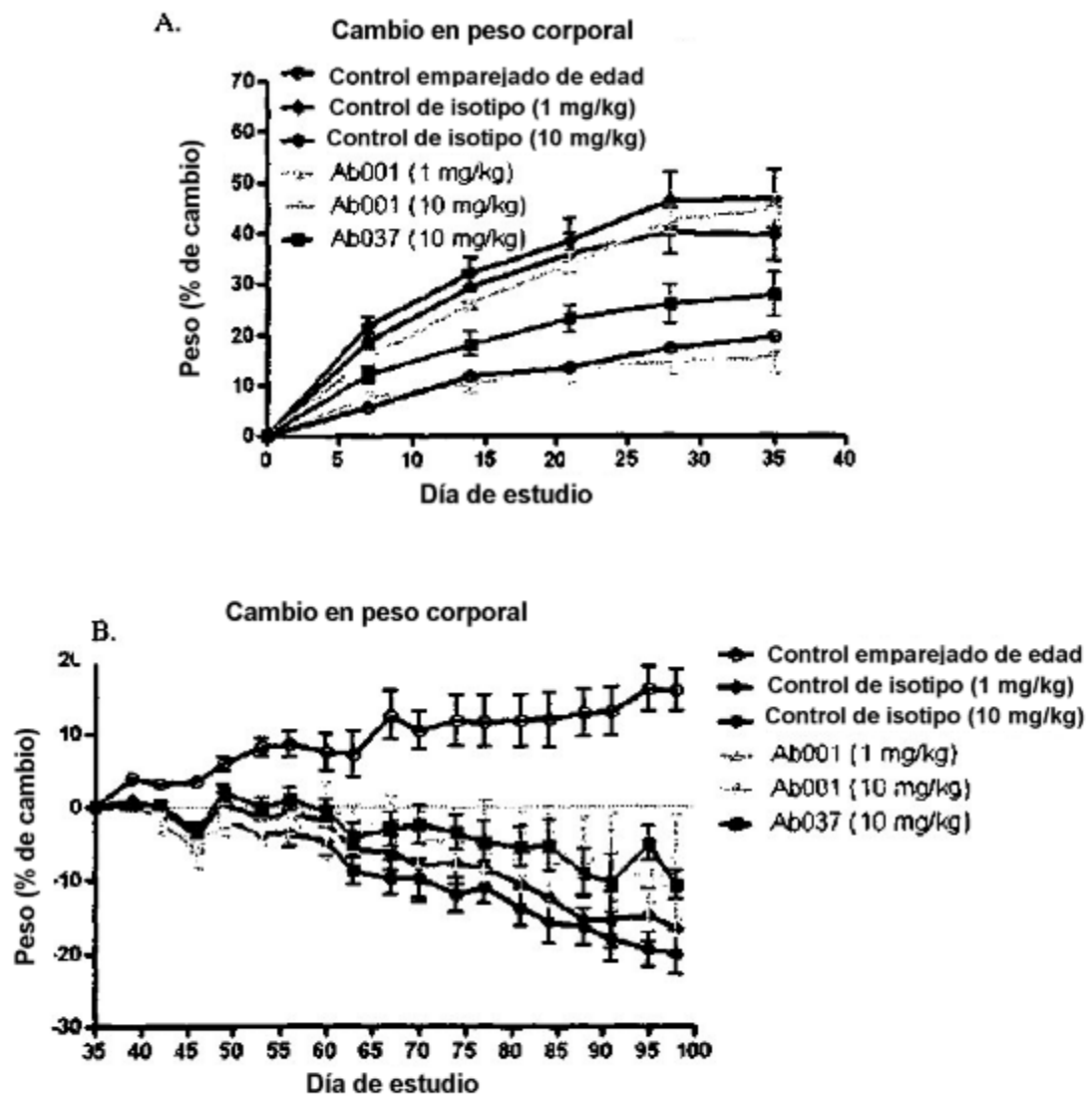
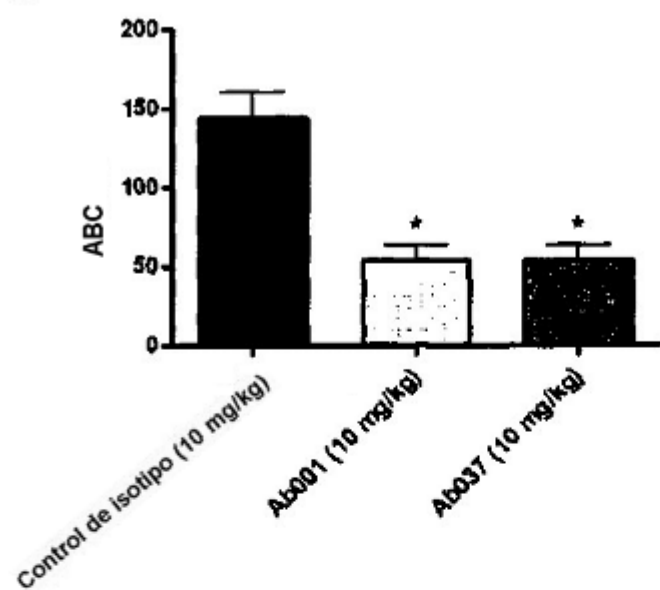


Figura 18 (Continuación)

C. Ganancia de peso: Área bajo la curva



D.

Reducción de peso: Área bajo la curva

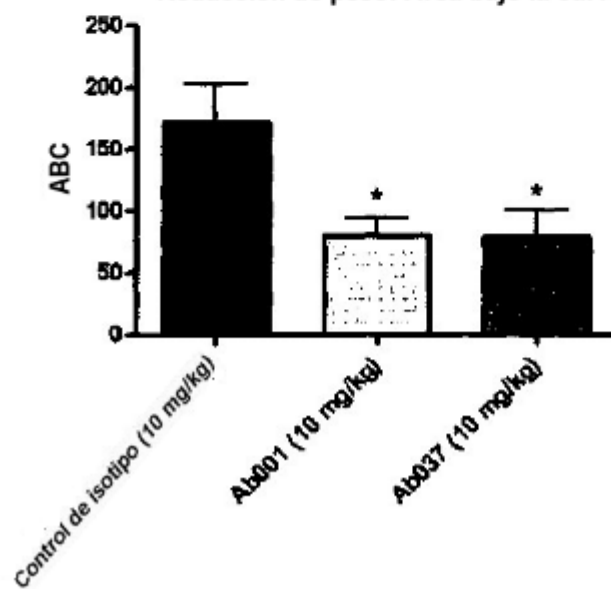
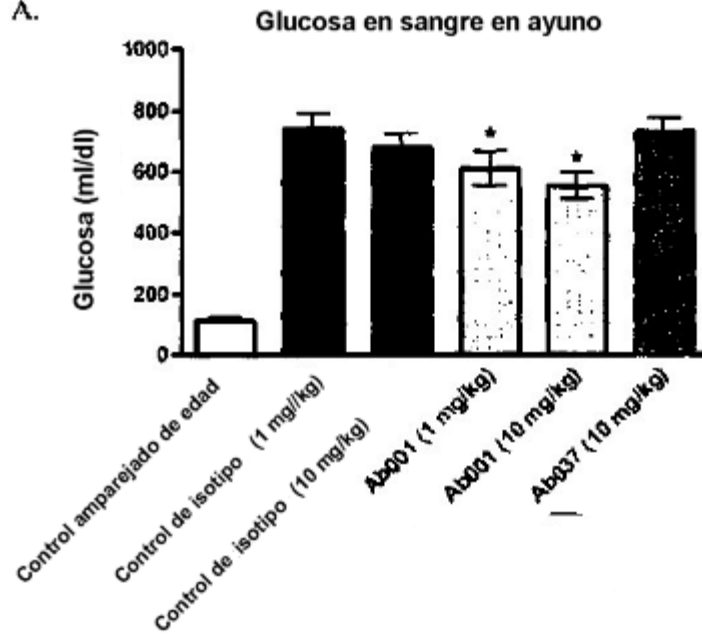


Figura 19

A.



B.

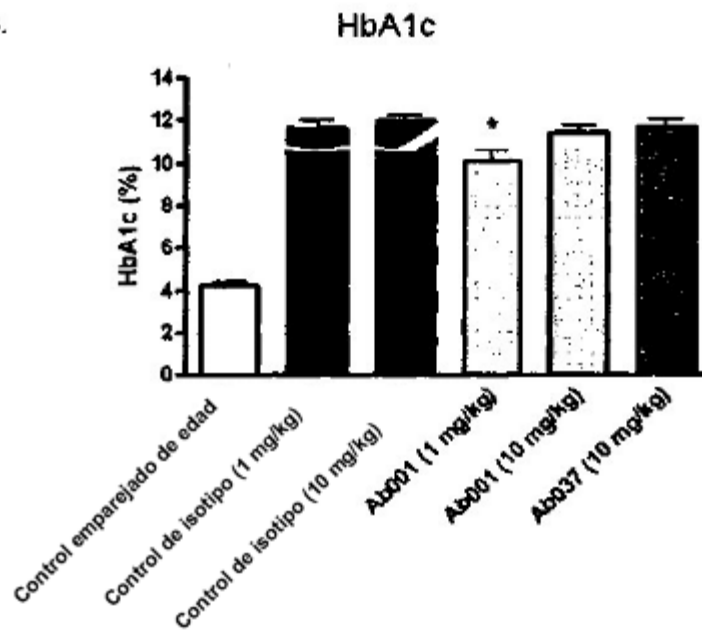


Figura 20

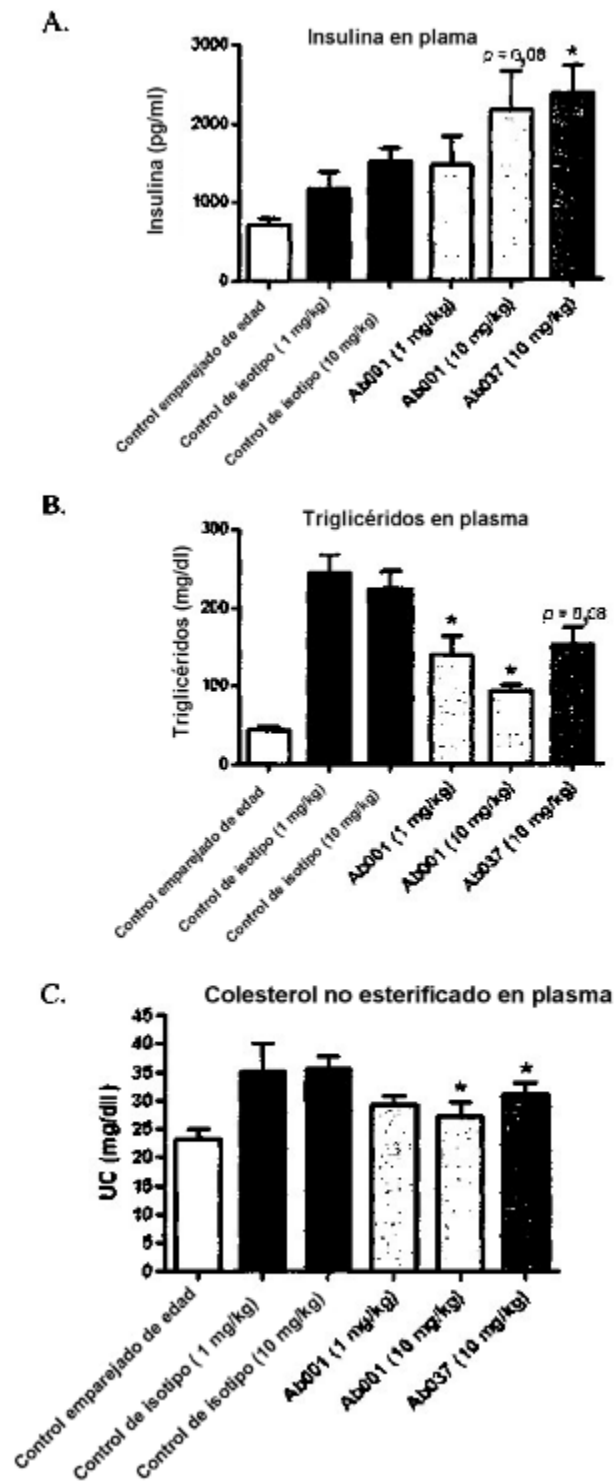


Figura 20 (Continuación)

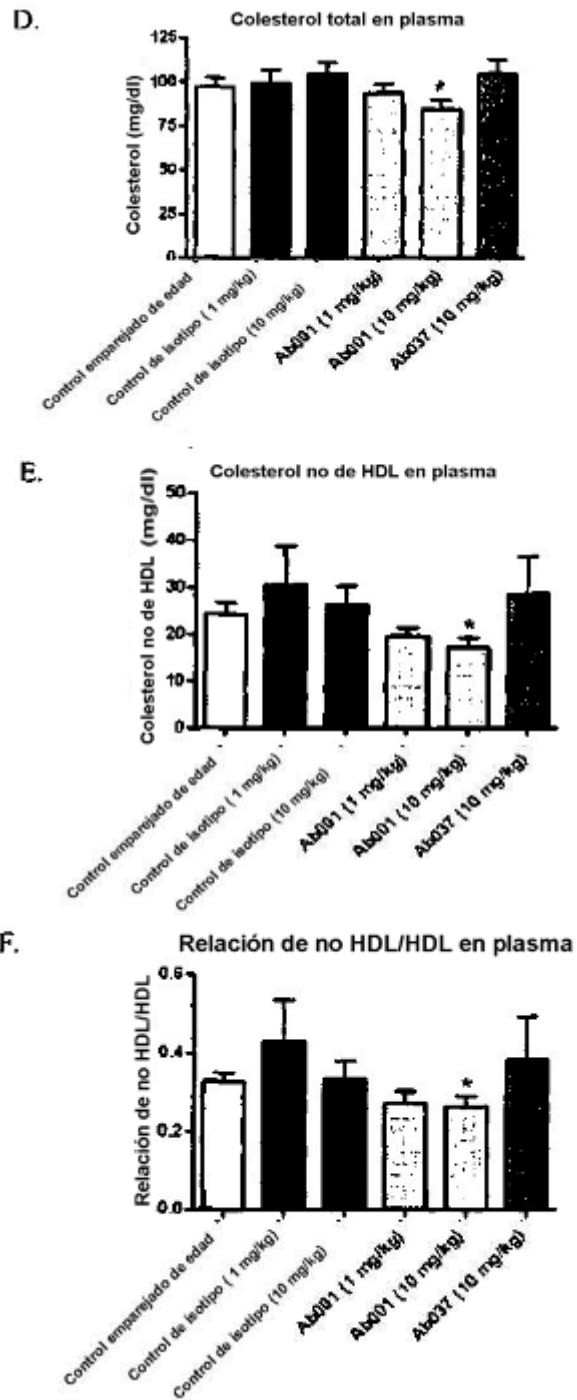


Figura 21

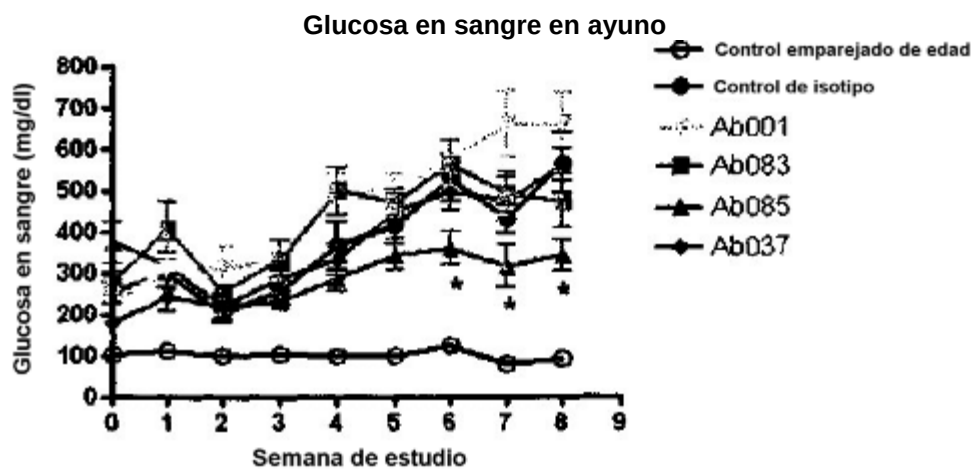


Figura 22

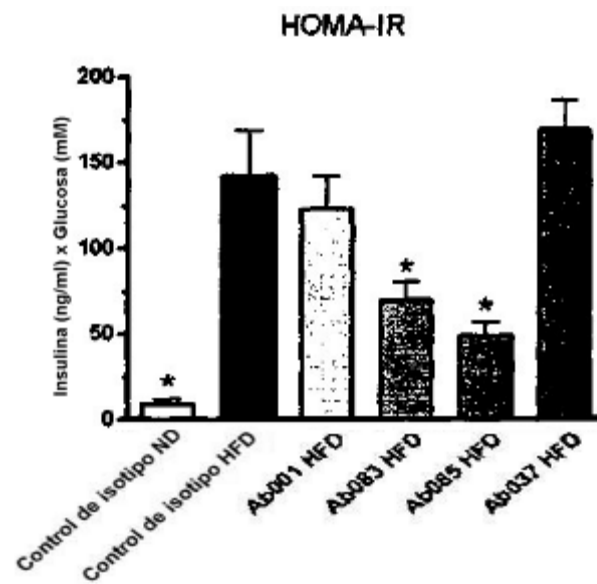


Figura 23

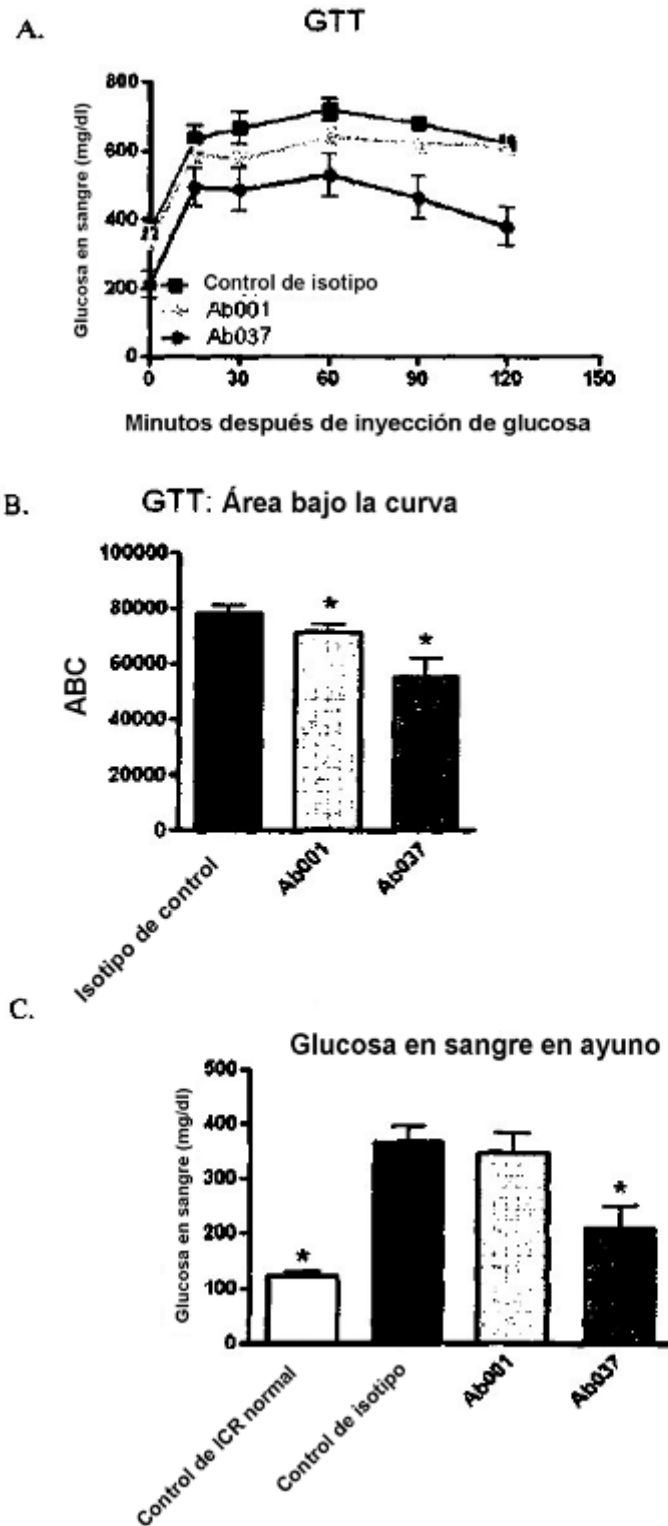
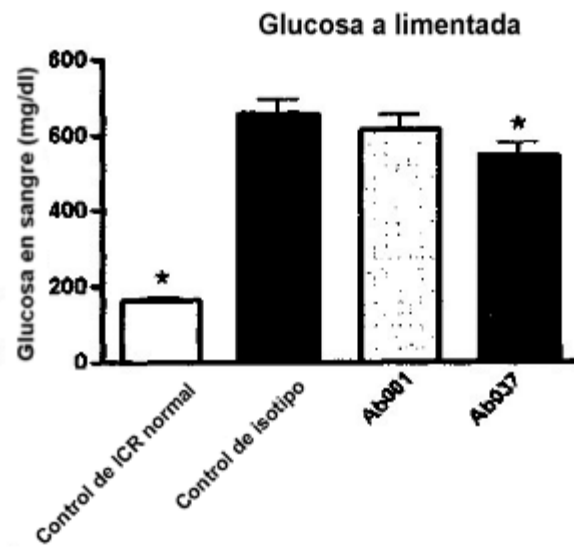


Figura 24

A.



B.

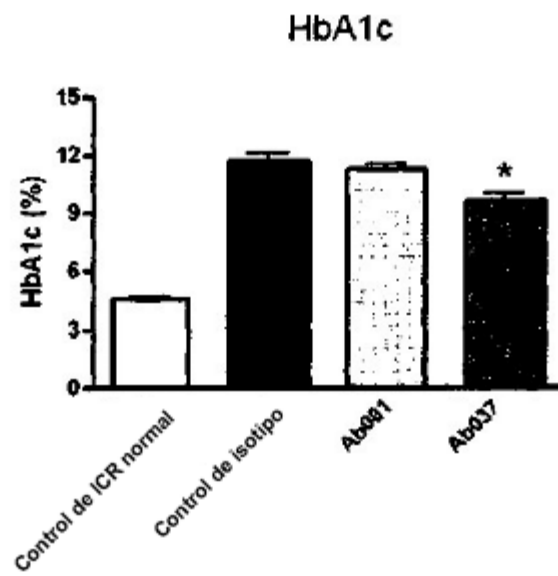


Figura 25

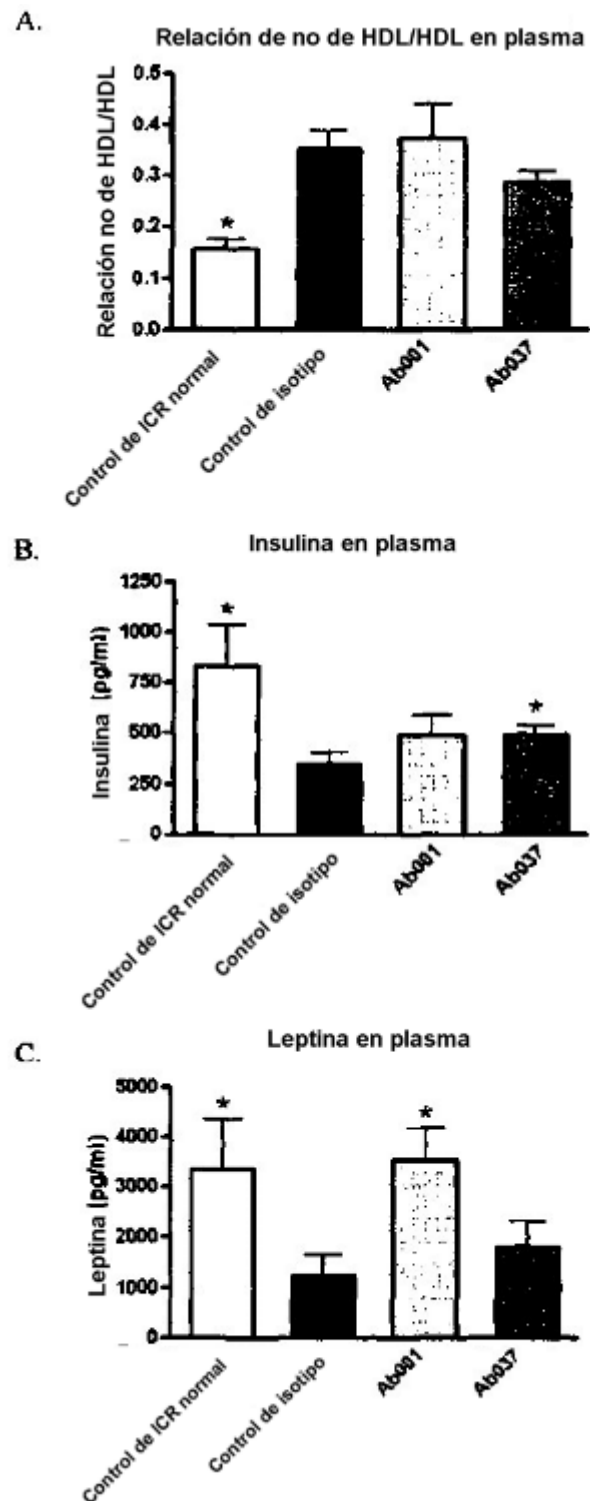


Figura 26
Cambio en peso corporal

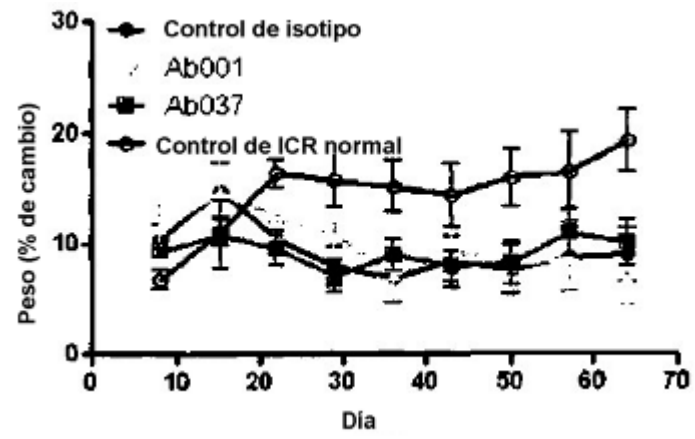


Figura 27

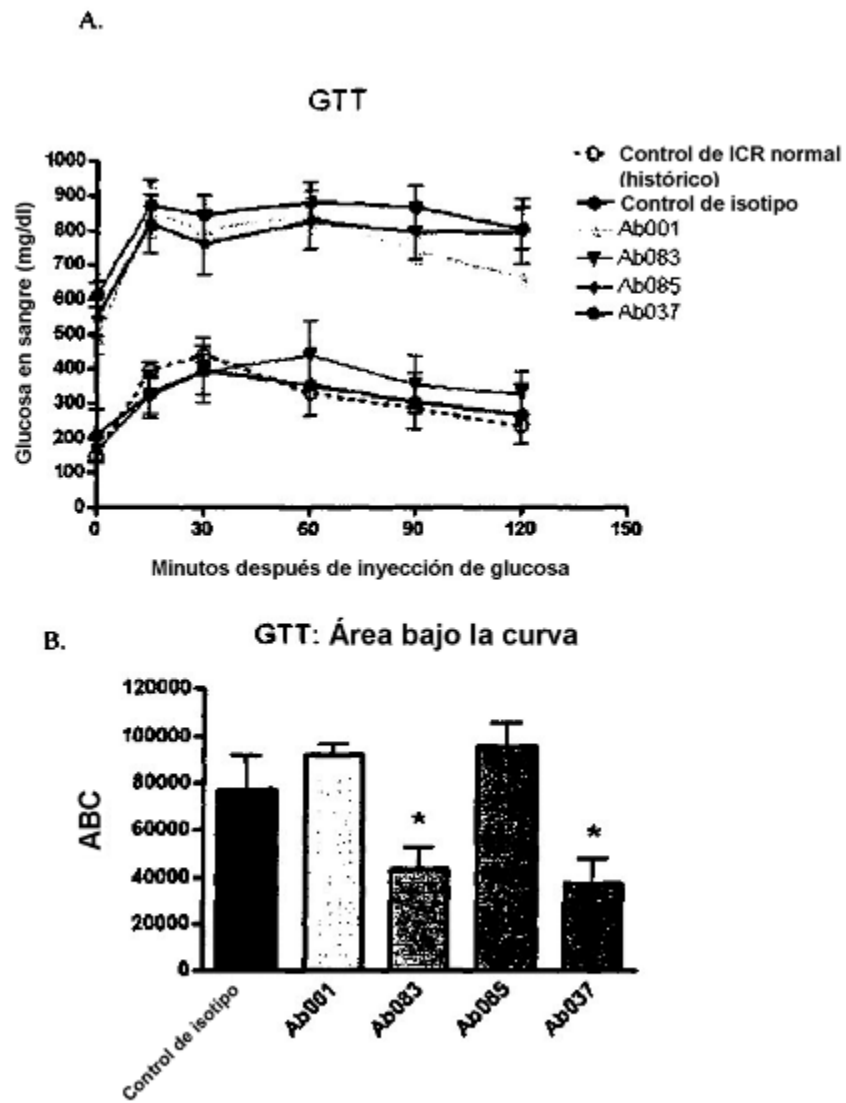


Figura 28
Glucosa en sangre en ayuno

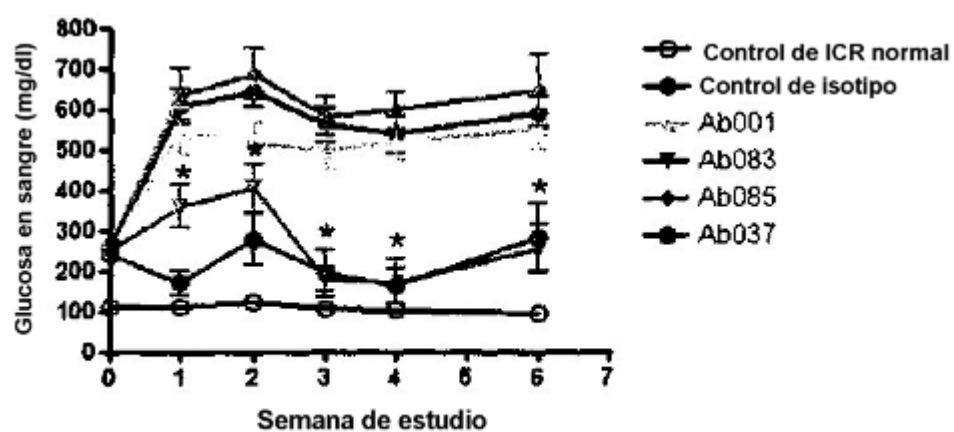


Figura 29

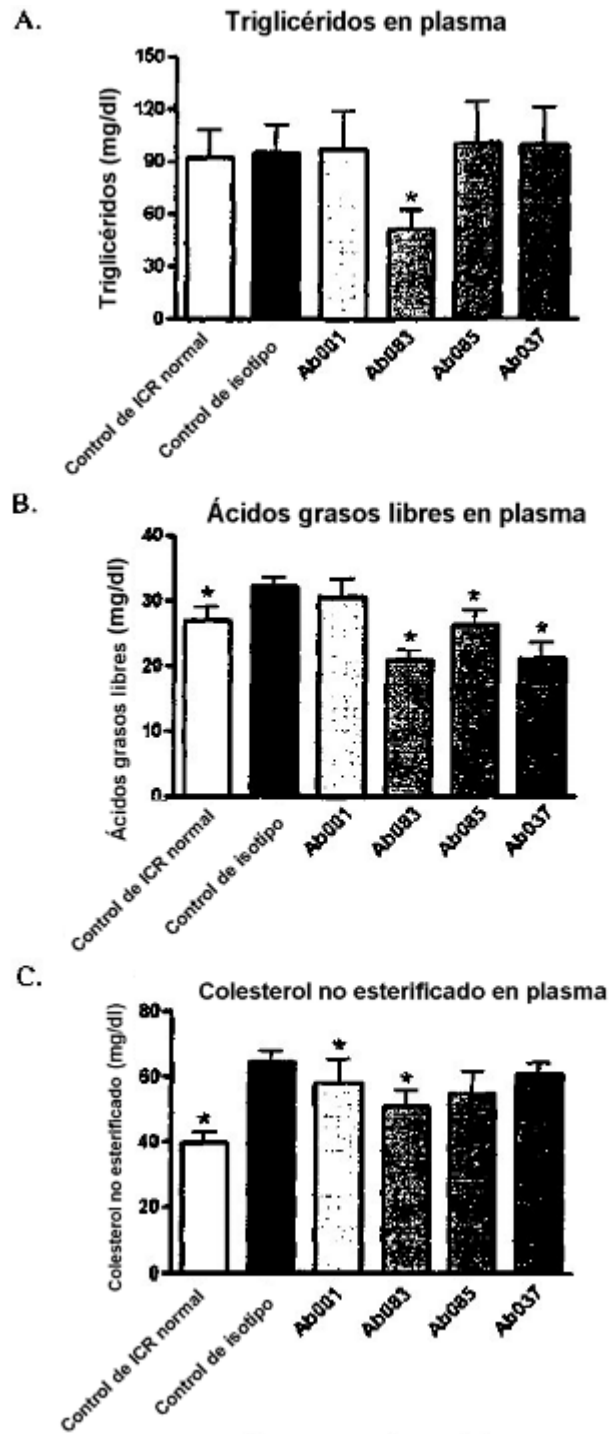
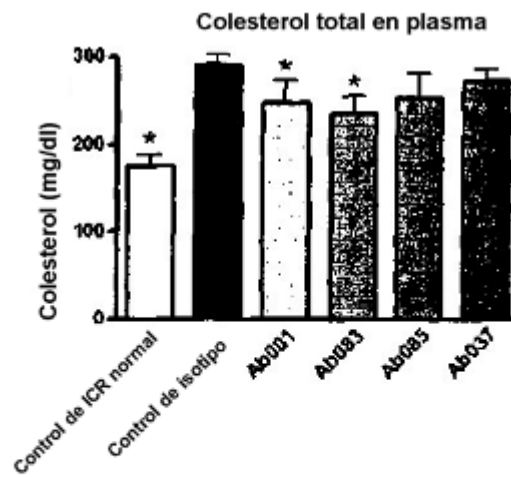
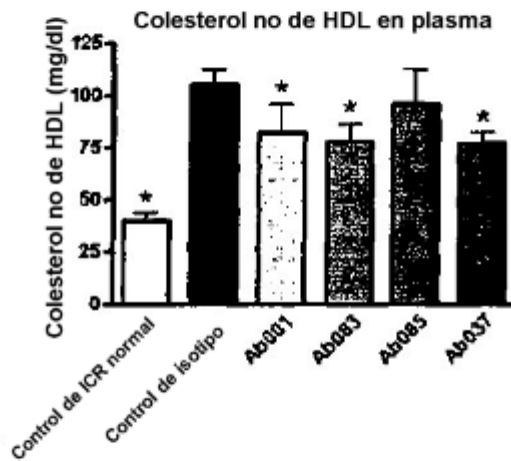


Figura 29 (Continuación)

D.



E.



F.

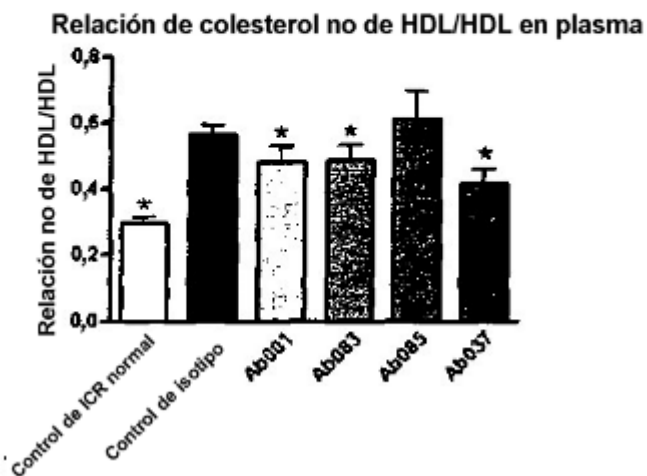


Figura 30.

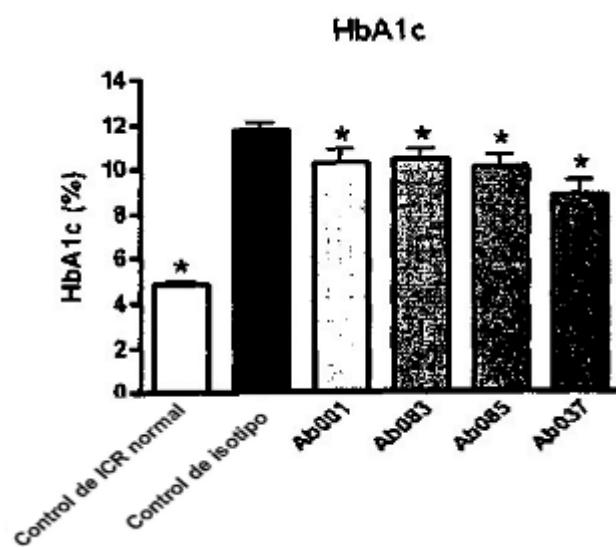


Figura 31

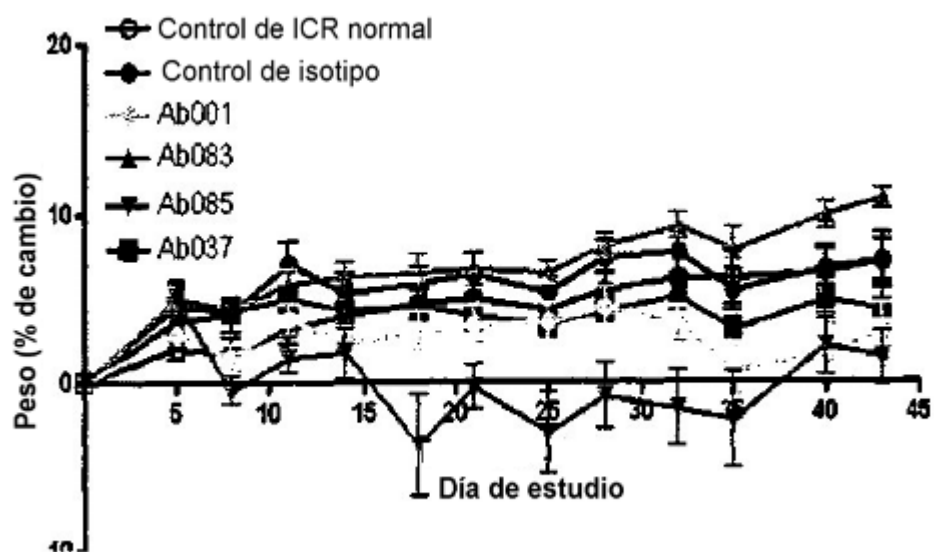


Figura 32

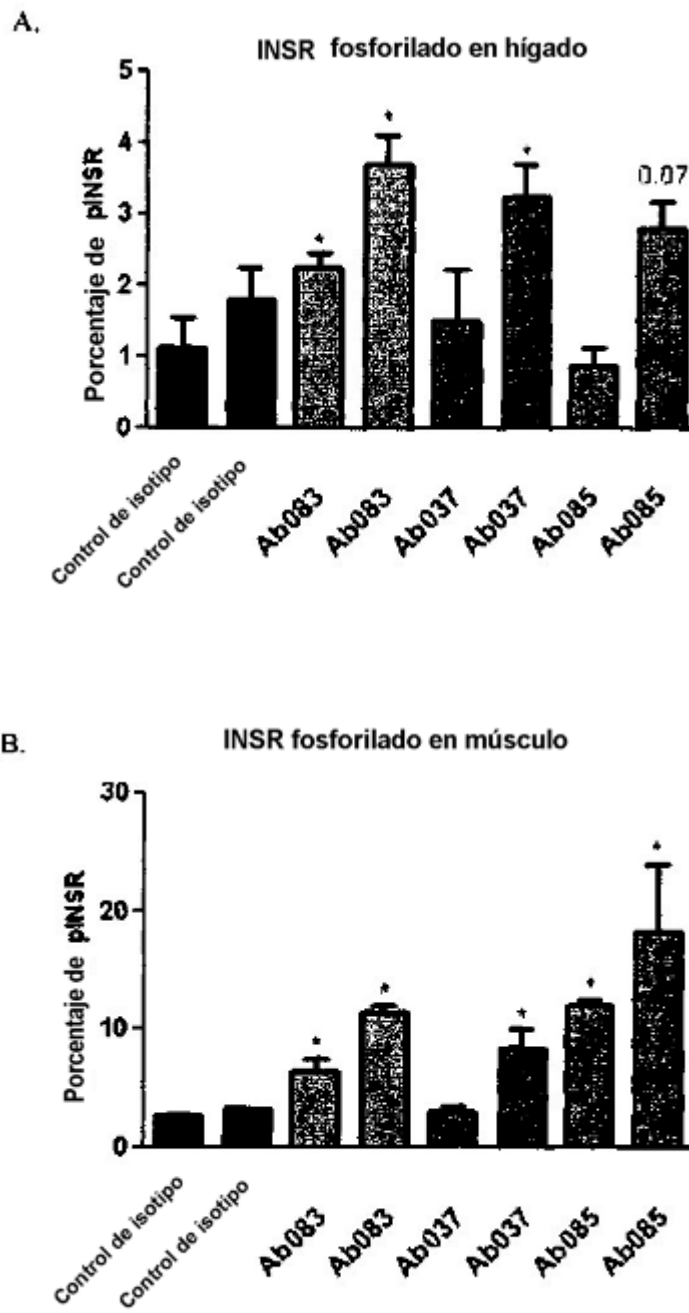


Figura 33

Anticuerpo ensayado	Área de FACS bajo MFI de datos transformados logarítmicamente de clones que se unen a INSR de células CHO-K1 después de ayuno de suero				Relación de área de FACS bajo datos de MFI transformados logarítmicamente de clones que se unen a INSR humano de CHOK1 con insulina y sin insulina (+insulina/- insulina)	
	INSR humano, sin insulina	INSR de ratón, sin insulina	INSR humano, con insulina	INSR de ratón con insulina	INSR humano	INSR de ratón
Ab050	252	424	81	170	0,32	0,40
Ab051	554	663	378	470	0,68	0,71
Ab052	445	892	134	397	0,30	0,45
Ab053	1331	1131	451	574	0,34	0,51
Ab054	1128	1027	356	519	0,32	0,51
Ab055	1192	1300	759	1050	0,64	0,81
Ab056	1110	21	927	41	0,84	1,98
Ab057	155	409	87	250	0,56	0,61
Ab058	1407	812	370	388	0,26	0,48
Ab059	22	14	764	13	34,25	ND
Ab060	460	210	308	388	0,67	1,85
Ab061	204	462	59	170	0,29	0,37
Ab062	1398	1448	790,3	1009	0,57	0,70
Ab063	943	1025	674	733	0,71	0,72
Ab064	1710	1019	1271	813	0,74	0,80
Ab065	205	483	57	177	0,28	0,37
Ab066	1564	1516	1157	1145	0,74	0,76
Ab067	1537	1281	1063	786	0,69	0,61
Ab068	1422	803	1028	445	0,72	0,55
Ab069	357	642	146	383	0,41	0,60

Anticuerpo ensayado	Área de FACS bajo MFI de datos transformados logarítmicamente de clones que se unen a INSR de células CHO-K1 después de ayuno de suero					Relación de área de FACS bajo datos de MFI transformados logarítmicamente de clones que se unen a INSR humano de CHOK1 con insulina y sin insulina (+insulina/-insulina)	
	INSR humano, sin insulina	INSR de ratón, sin insulina	INSR humano, con insulina	INSR de ratón con insulina	INSR humano	INSR de ratón	
Ab070	283	587	150	389	0,53	0,66	
Ab071	490	818	194	518	0,40	0,63	
Ab072	226	508	84	267	0,37	0,53	
Ab073	729	307	341	321	0,47	1,05	
Ab074	596	932	260	503	0,44	0,54	
Ab075	692	425	353	446	0,51	1,05	
Ab076	552	268	543	391	0,98	1,46	
Ab077	127	45	268	103	2,12	2,28	
Ab078	11	12	704	217	66	17,6	
Ab079	296	154	385	215	1,30	1,39	
Ab080	282	157	386	191	1,37	1,22	
Ab081	176	189	75	125	0,42	0,66	
Ab082	399	257	236	267	0,59	1,04	
Ab083	97	81	294	179	3,03	2,21	
Ab084	532	196	508	344	0,95	1,75	
Ab001+ IgG anti-humano APC p1	294	34	565	127	1,92	3,68	
Ab001+ IgG anti-humano APC p2	687	443	1017	1062	1,48	2,40	
Ab001+ IgG anti-humano APC p3							
Ab001+ IgG anti-humano APC p5	534	176	1006	485	1,89	2,76	
Ab001+ IgG anti-humano APC p6 recortado	693	232	1030	518	1,49	2,24	

ND = no determinado

Figura 33 (continuación)

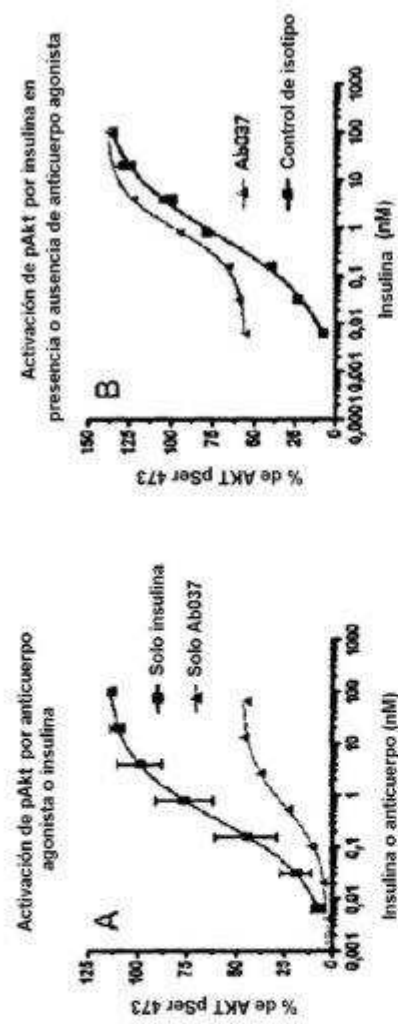


Figura 34
Figura 35

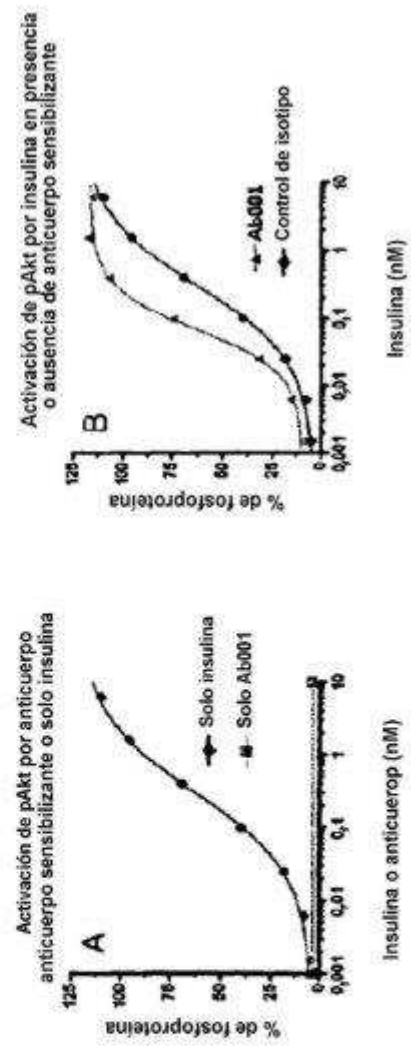


Figura 36

<i>Línea celular de receptor de insulina modificada por ingeniería genética usada en el ensayo</i>	<i>Parámetro de ensayo determinado a partir de ajuste de curva de respuesta a dosis sigmoidal</i>	<i>Insulina humana</i>	<i>Ab037</i>	<i>Ah030</i>	<i>Ab040</i>	<i>Ab018</i>
CHO-K1 INSR humano	Activación máxima relativa de PaKt por insulina o solo anticuerpo	100 %	44 %	47 %	19 %	36 %
	CE ₅₀ (nM) de insulina o anticuerpo solo	0,6	0,8	12	4	1
	Coeficiente de Hill de insulina o anticuerpo solo	0,8	0,9	1,8	1,4	1,4
CHO-K1 INSR de ratón	Activación máxima de PaKt por insulina o anticuerpo solo	100 %	29 %	37 %	25 %	26 %
	CE ₅₀ (nM) de insulina o anticuerpo solo	3,4	1,4	11	4	3
	Coeficiente de Hill de insulina o anticuerpo solo	0,7	1	1,7	1,3	1

Figura 37

Línea celular de receptor de insulina modificada por ingeniería genética usada en el ensayo	Parámetro de ensayo determinado a partir del ajuste de la curva de respuesta a dosis sigmoidal	Ensayo 1		Ensayo 2	
		Insulina HU con 10 $\mu\text{g/ml}$ de anticuerpo de control	Insulina HU con 10 $\mu\text{g/ml}$ de Ab037	Insulina HU con 10 $\mu\text{g/ml}$ de anticuerpo de control	Insulina HU con 10 $\mu\text{g/ml}$ de Ab040
CHO-K1 INSR humano	Activación máxima relativa de pAkt en presencia de 10 $\mu\text{g/ml}$ de anticuerpo	100 $\pm$ 5 %	93 $\pm$ 2 %	100 $\pm$ 3 %	85 $\pm$ 1 %
	CE50 de insulina en presencia de 10 $\mu\text{g/ml}$ de anticuerpo (nM)	0,7 $\pm$ 0,3	1 $\pm$ 0,3	0,8 $\pm$ 0,2	0,3 $\pm$ 0,1
CHO-K1 INSR de ratón	Activación máxima relativa de pAkt en presencia de 10 $\mu\text{g/ml}$ de anticuerpo	100 $\pm$ 2 %	99 $\pm$ 1 %	100 $\pm$ 3 %	98 $\pm$ 1 %
	CE50 de insulina en presencia de 10 $\mu\text{g/ml}$ de anticuerpo (nM)	3,3 $\pm$ 0,6	2,1 $\pm$ 0,4	3 $\pm$ 1	0,6 $\pm$ 0,2

Figura 38

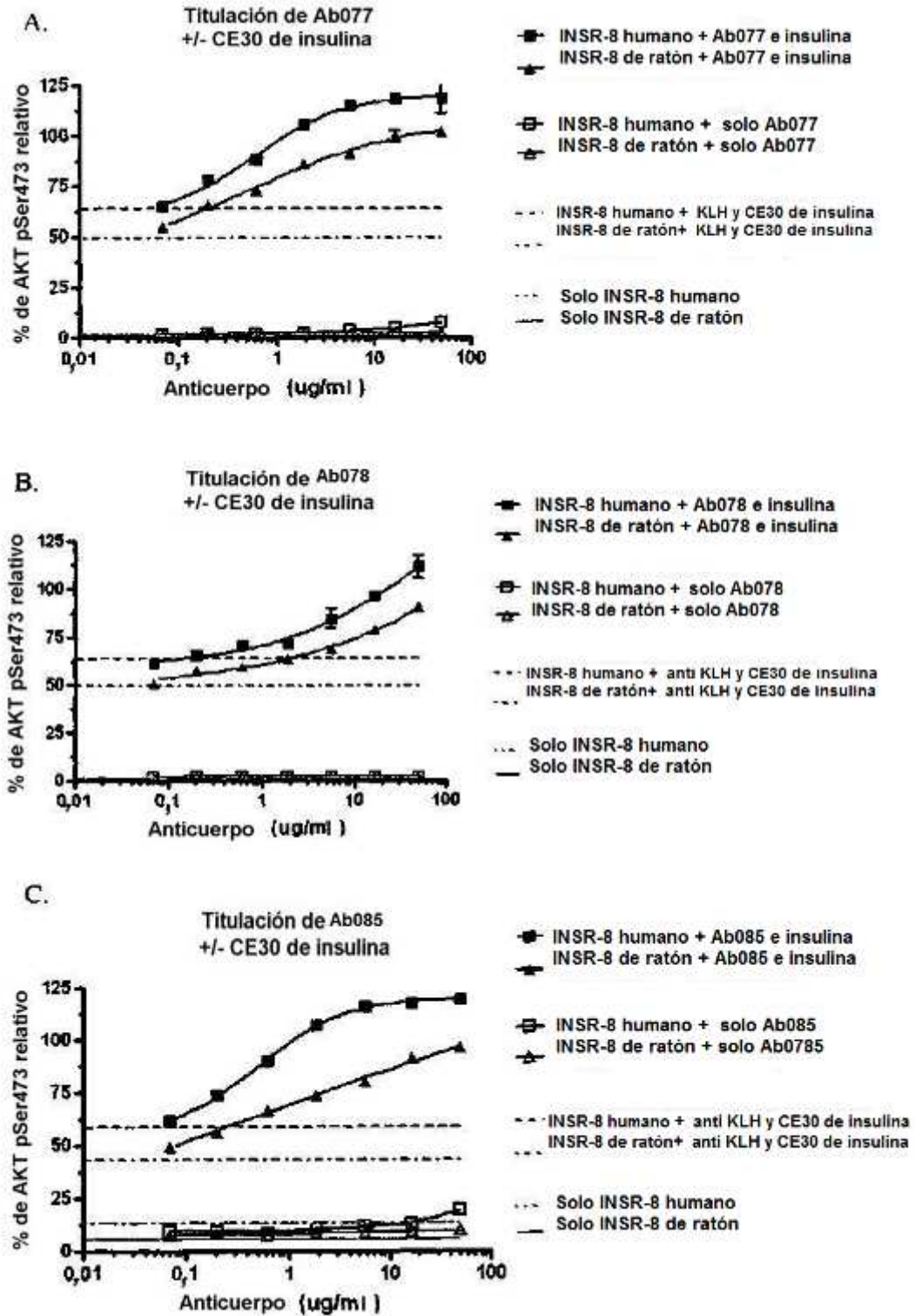


Figura 39

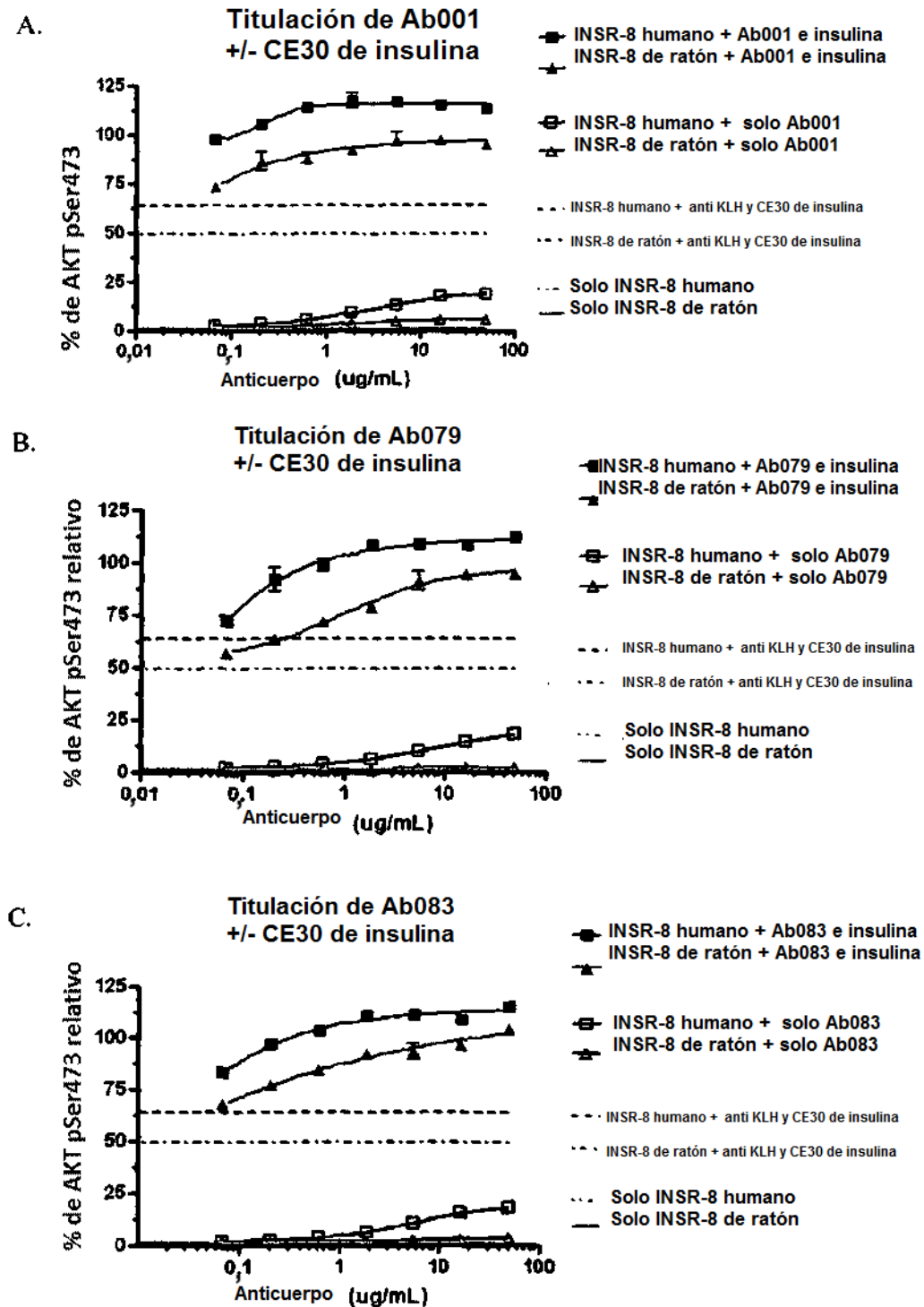


Figura 40

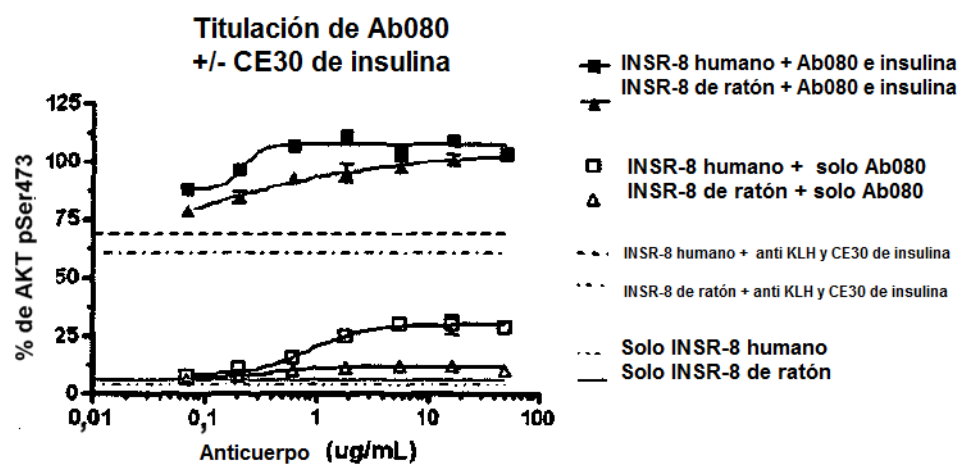


Figura 41

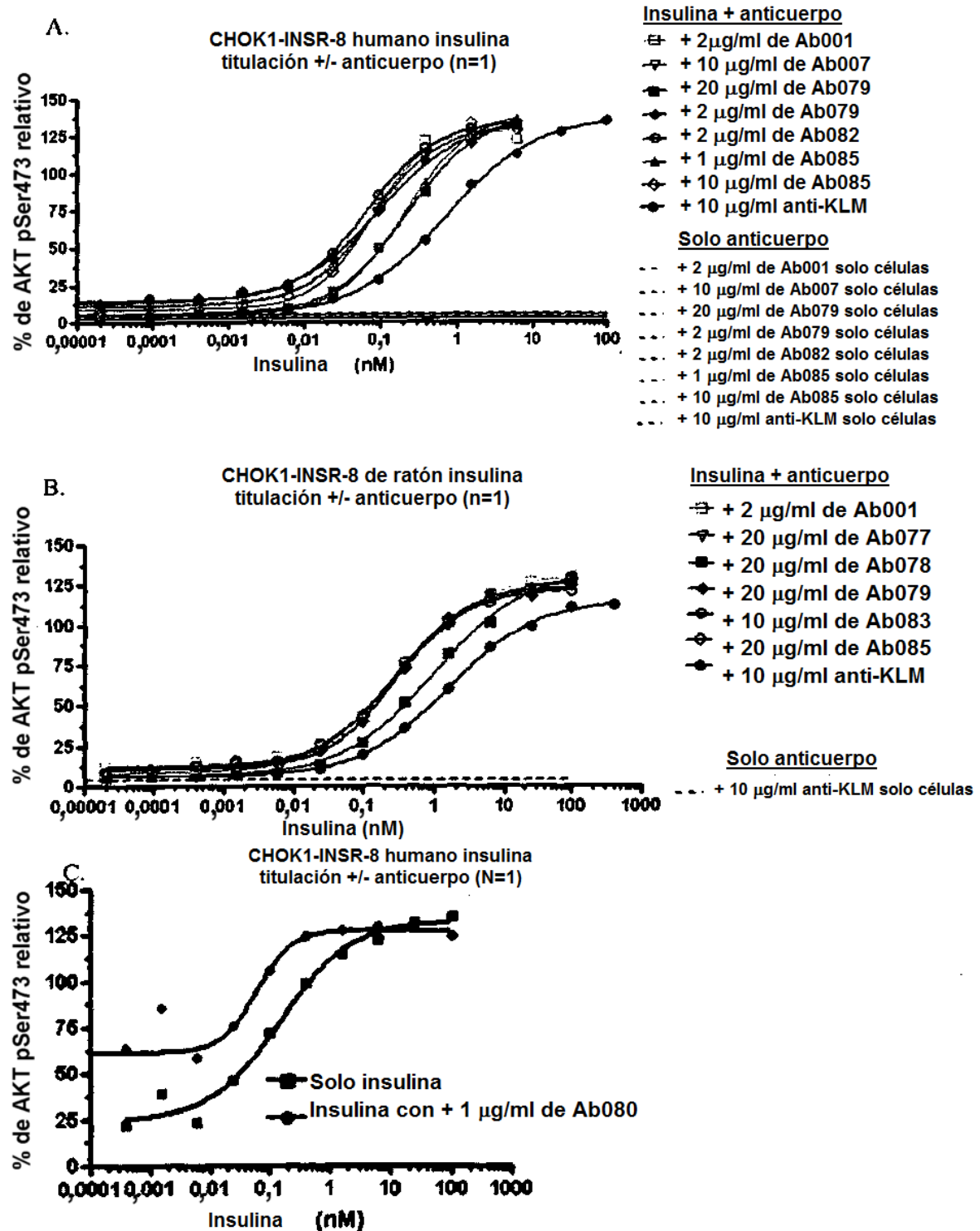


Figura 42
CHOK1- INSR-8 humano
Titulación de Ac (n=1)

A..

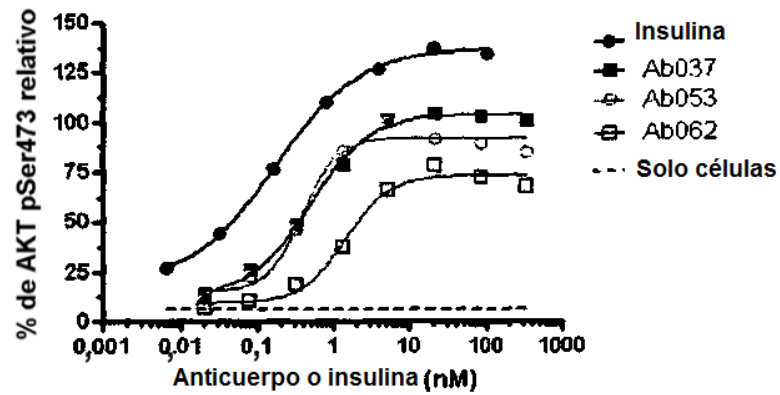


Figura 43
CHOK1- INSR-8 de ratón
Titulación de Ac (n=1)

B..

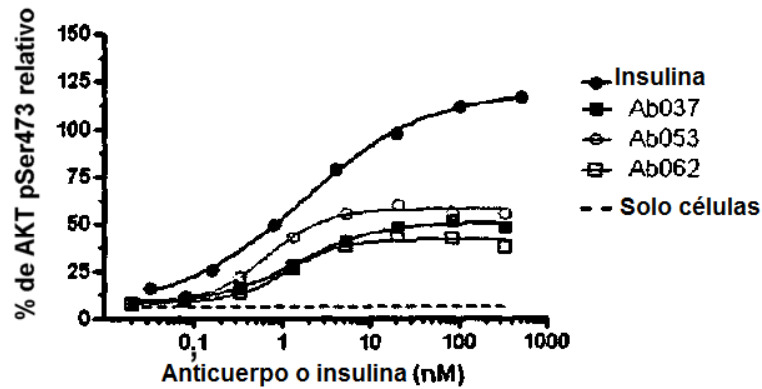


Figura 43

Titulación de insulina +/- anticuerpo
(CHOK1-INSR-8 humano, n=1)

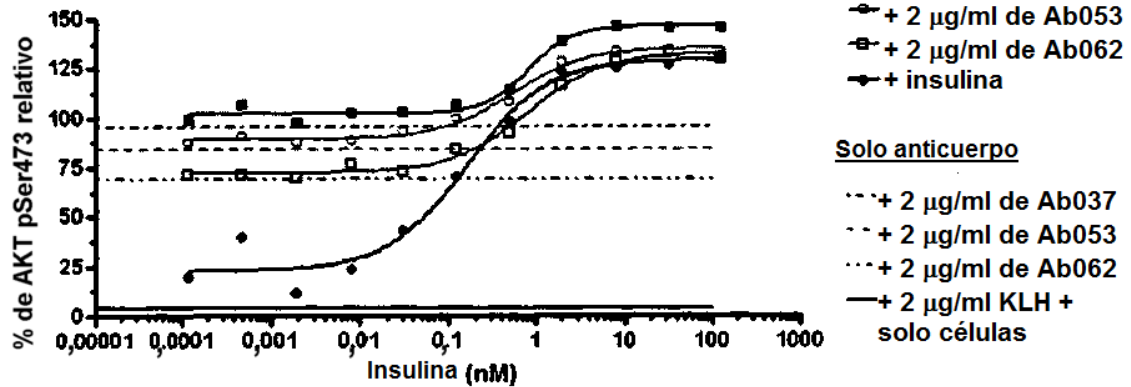
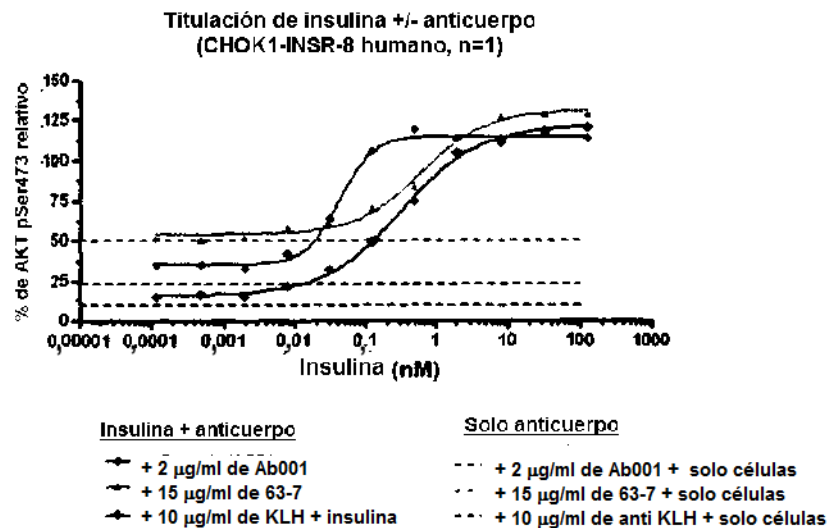


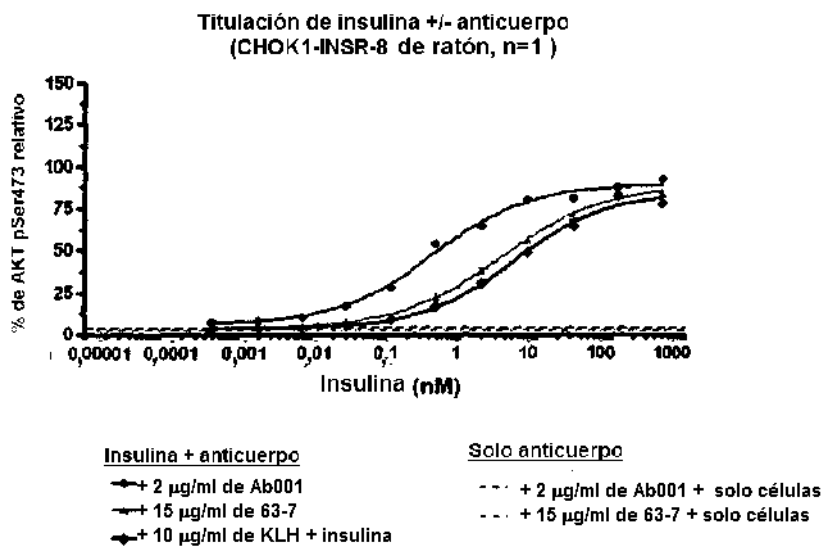
Figura 44

A.



	+ 2µg/ml de Ab001	+ 15 µg/ml de 83-7	+ 2 µg/ml de anti-KLH
CE50	0,04093	0,6235	0,3129
CE50 (Intervalo de confianza al 95 %)	0,03330 a 0,05030	0,4215 a 0,9225	0,2483 a 0,3942

B.



	+ 2µg/ml de Ab001	+ 15 µg/ml de 83-7	+ 10 µg/ml de anti-KLH
CE50	0,4418	3,622	5,293
CE50 (Intervalo de confianza al 95 %)	0,2741 a 0,7121	2,681 a 4,893	3,294 a 8,505

Figura 45
Eliminación de insulina por células hiNSR8 CHO

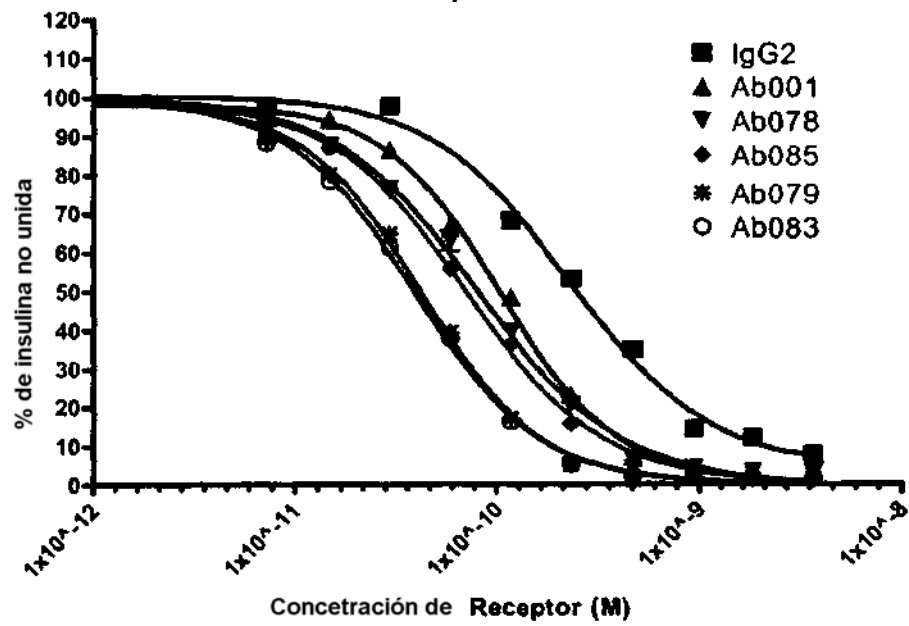


Figura 46
Eliminación de insulina de solución por células hiNSR8 CHO

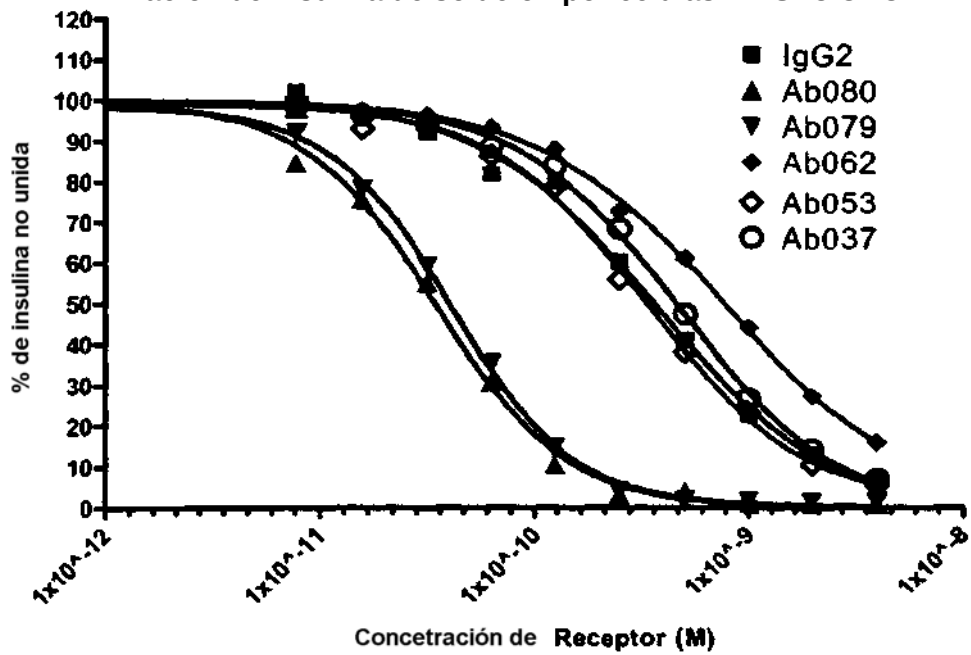


Figura 47

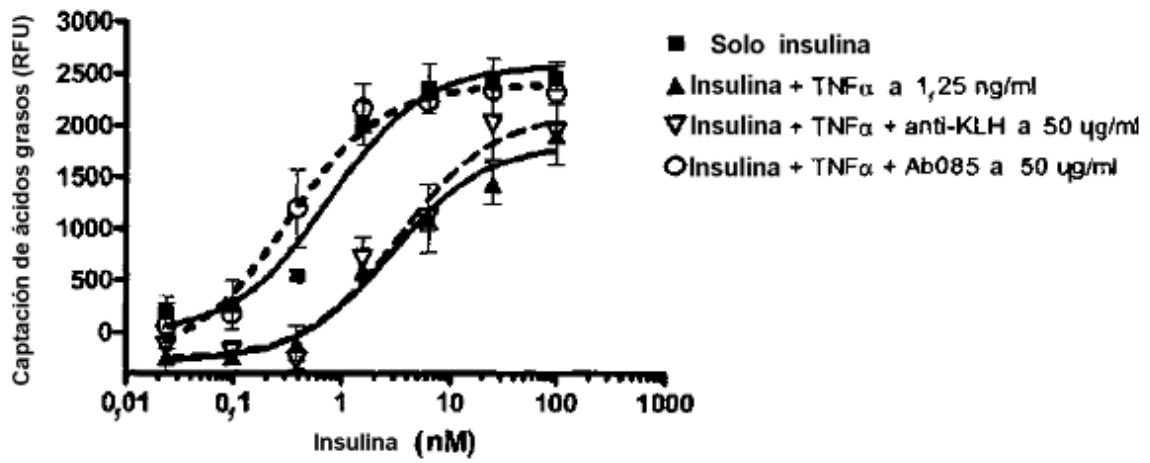


Figura 48
CHOK1-INSR-8
Titulación de anticuerpo (n=2)

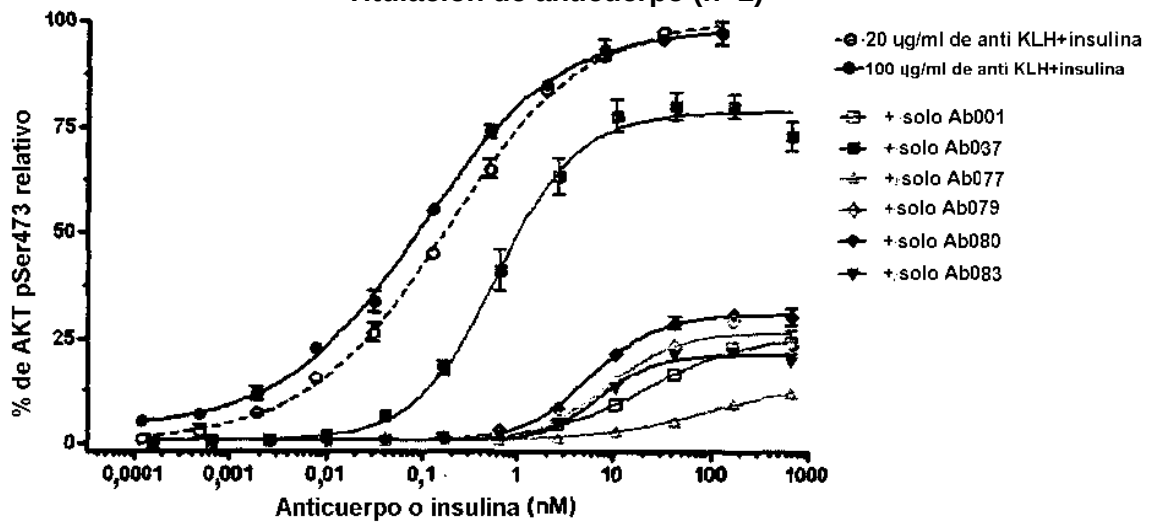


Figura 49
CHOK1-INSR-8 de ratón
Titulación de anticuerpos (n=2)

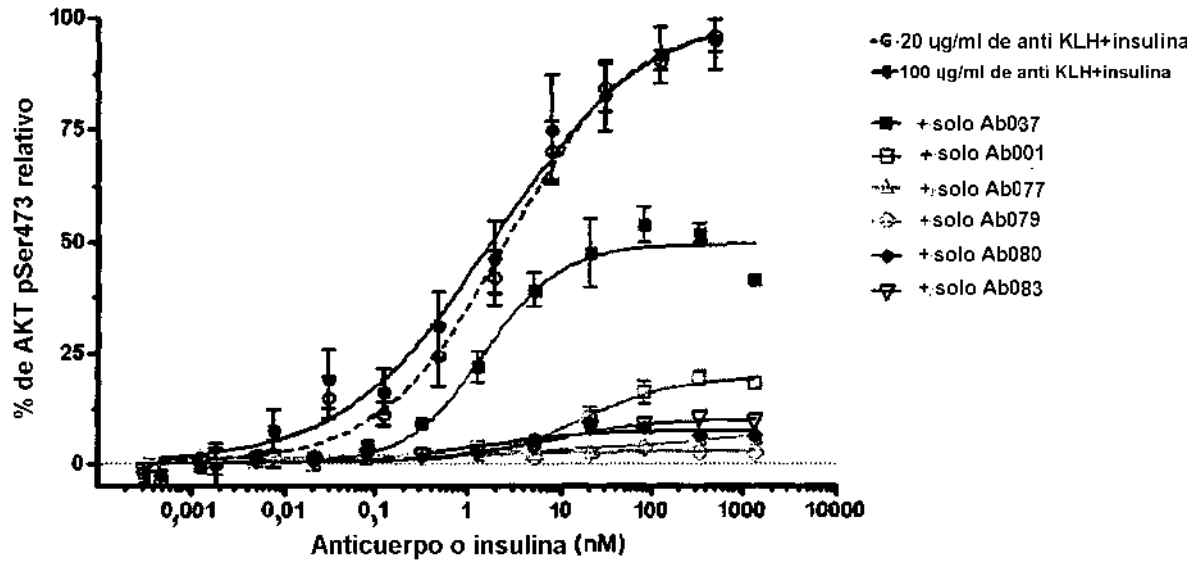


Figura 50
CHOK1-INSR-8 humano
Titulación de anticuerpo (n=2)

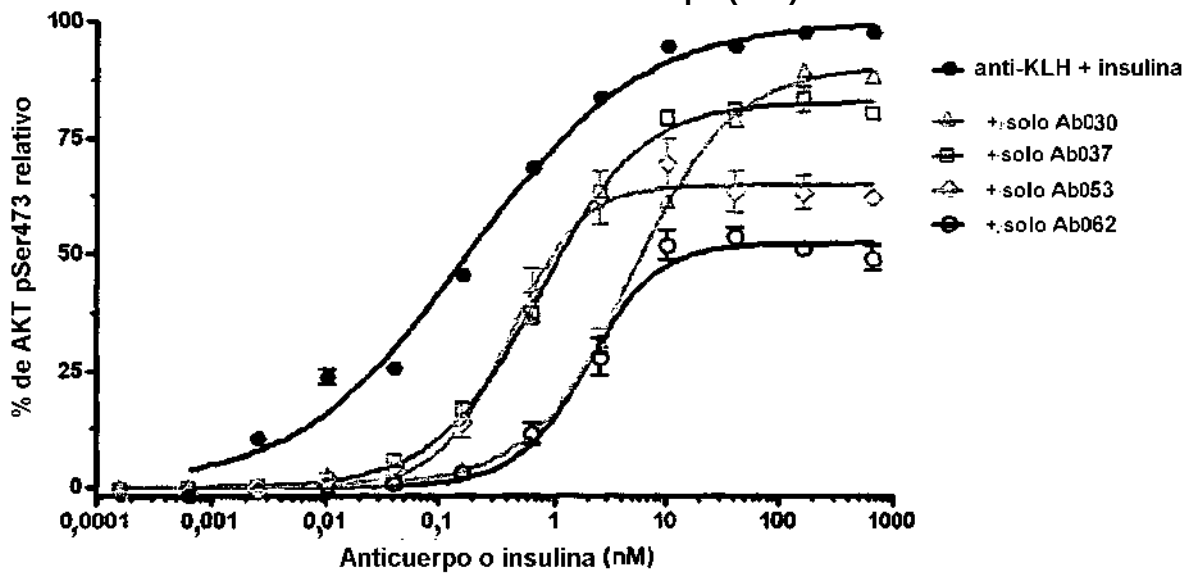


Figura 51
CHOK1-INSR-8 de ratón
Titulación de anticuerpo (n=2)

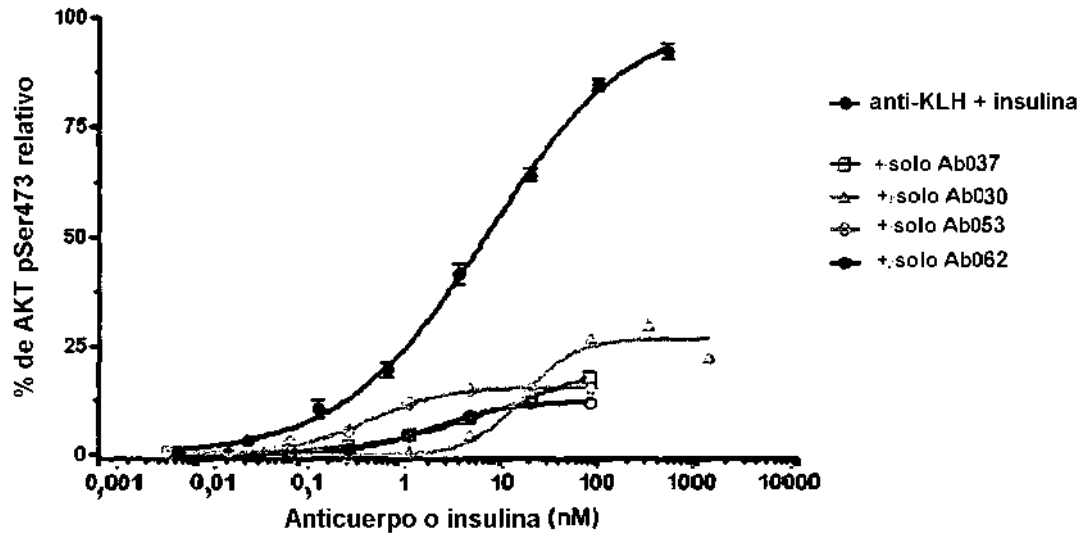
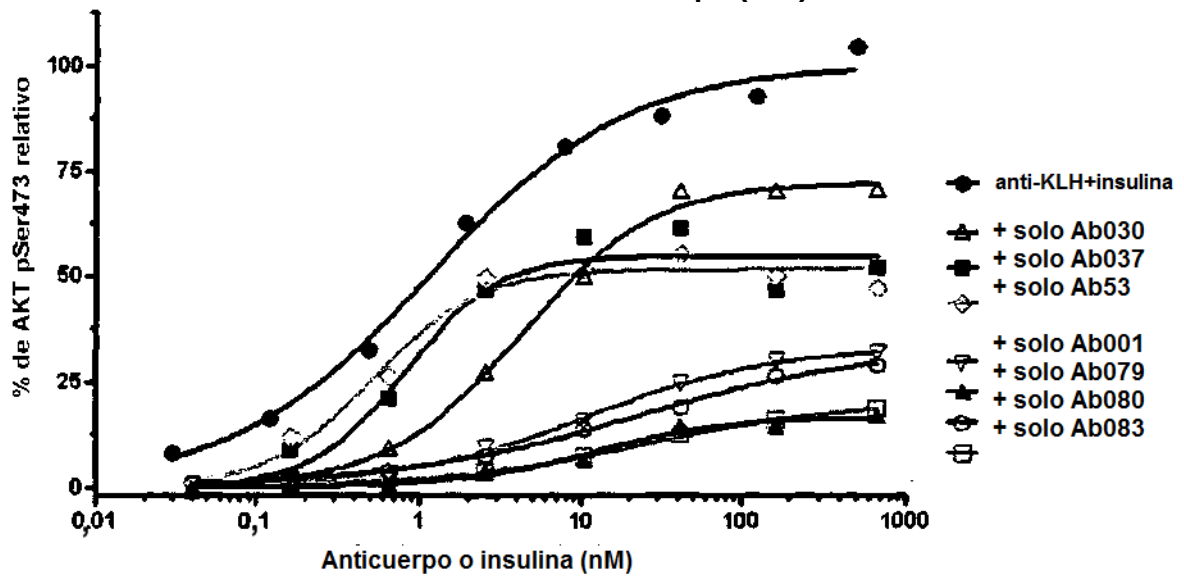


Figura 52
CHOK1-INSR4 de cinomolgo
Titulación de anticuerpo (n=1)



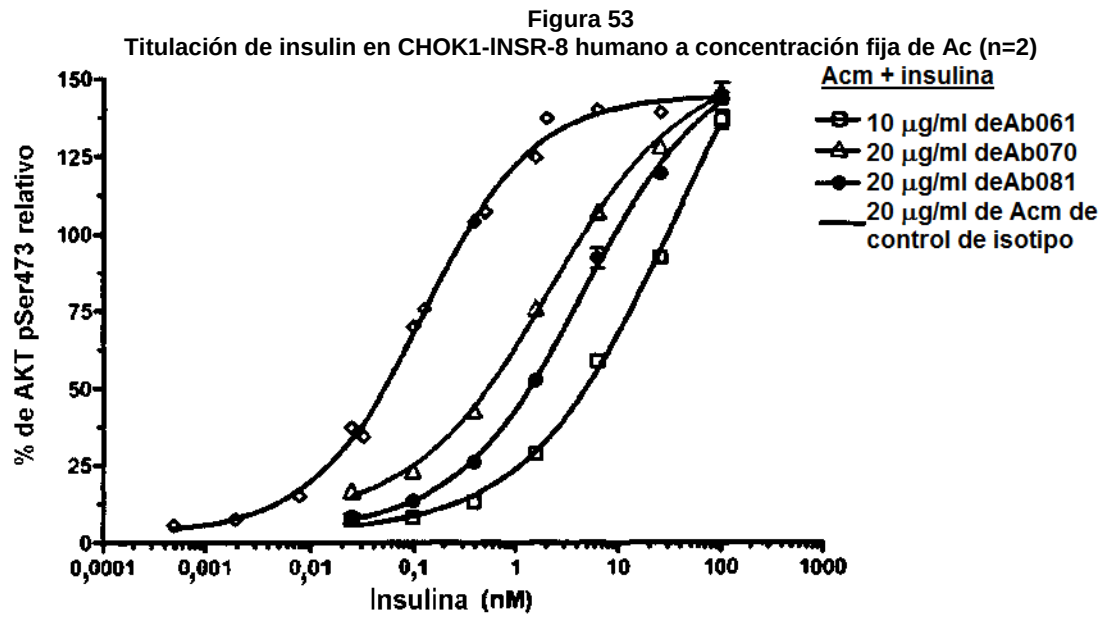


Tabla 1

Secuencias de cadena ligera

Figura 54

Clon	PBMC humanos		CHO InsR Hu		PBMC de cino		CHO InsR de Cino		PBM de conejoC		CHO InsR de conejo	
	(-) <i>insulina</i>	(+) <i>insulina</i>	(-) <i>insulina</i>	(+) <i>insulina</i>	(-) <i>insulina</i>	(+) <i>insulina</i>	(-) <i>insulina</i>	(+) <i>insulina</i>	(-) <i>insulina</i>	(+) <i>insulina</i>	(-) <i>insulina</i>	(+) <i>insulina</i>
Ab001	+	++	+	++	+	++	+	++	+	++	++	+
Ab010	+	++			-	-						
Ab018					+	++						
Ab030	+	++			+	+						
Ab037	+	+	+	++	+	++	+	++	+	+	++	+
Ab040	+	+			+	++						
Ab050			++	+			++	+			+	+
Ab052			+	+			+	+			++	+
Ab053			++	+	+	+	++	+	+	+	++	+
Ab054			++	+			++	+			++	+
Ab058			+	+			+	+			++	+
Ab062			+	+			+	+	+	+	++	+
Ab077					+	++			-	-		
Ab078			-	++	+	++	-	++	-	++	-	++
Ab079					+	++			+	++		
Ab080			+	++	+	+	+	++	+	+	+	++
Ab083					+	++			+	++		
Ab085			-	++	+	++	-	++	+	++	-	++

Tabla 1
Secuencias de cadena ligera

Nombre	N.º de Ac	L-FR1	L-COR1	L-FR2	L-CD2	L-FR4	SEC ID
XPA-13-093 VL	Ab023	QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	TSNIGSNY- FPIGIGSNY-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	GRS	AARDIS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 21
XPA-13-095 VL		QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	FPIGIGSNY-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	APY	AARDIS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 22
XPA-13-094 VL	Ab043	QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	TSNIGSNY- SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	GRS	AARDIS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 23
XPA-13-106 VL		QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	SEN	ATVDIS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 24
XPA-13-109 VL		QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	FPIGIGSNY-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	SEN	ATVDIS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 25
XPA-13-124 VL		QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	ASNLGWHF-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	BDH	QSTYGS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 26
XPA-13-121 VL		QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	GRN	AARDIS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 27
XPA-13-122 VL	Ab047	QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	DBR	QSTYGS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 28
XPA-13-127 VL		QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	GRS	AARDIS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 29
XPA-13-128 VL		QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	SOH	AARDIS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 30
XPA-13-133 VL		QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	SEN	SSTYGS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 31
XPA-13-135 VL		QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	SDO	ASNDYS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 32
XPA-13-136 VL		QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	TDS	USRDUS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 33
XPA-13-138 VL	Ab018	QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	DNN	ATVDIS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 34
XPA-13-143 VL	Ab001	QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	TSNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	RNN	AARDIS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 35
XPA-13-141 VL		QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	GNT	AARDIS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 36
XPA-13-144 VL		QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	BNY	ATVDIS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 37
XPA-13-145 VL	Ab012	QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	GRN	AARDIS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 38
XPA-13-140 VL		QSVLT---QPR- SASGTFCQAVTISCSS	SBNIGSNT-	VSMYQQLPCTAPKLLIY	GAT	SEADYS -LSPHY	VFQGGTALTYLG 39

Tabla 1
Secuencias de cadena ligera

Nombre	N.º de Ac.	L-PR1	L-CDR1	L-PR2	L-CDR2	L-PR3	L-CDR3	L-PR4	SEC ID N.º
XPA-13-159 VL	Ab013	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	TSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	SAMDUT -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	40
XPA-13-167 VL		QSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	AAMDOR -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	41
XPA-13-169 VL	Ab034	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	42
XPA-13-013 VL	Ab006	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	43
XPA-13-020 VL		DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	44
XPA-13-017 VL	Ab017	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	45
XPA-13-009 VL	Ab022	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	46
XPA-13-033 VL		DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	47
XPA-13-037 VL	Ab031	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	48
XPA-13-042 VL	Ab027	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	49
XPA-13-036 VL	Ab030	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	50
XPA-13-047 VL	Ab036	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	51
XPA-13-007 VL	Ab029	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	52
XPA-13-074 VL	Ab039	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	53
XPA-13-085 VL	Ab011	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	54
XPA-13-015 VL	Ab009	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	55
XPA-13-082 VL	Ab041	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	56
XPA-13-086 VL	Ab004	DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	57
XPA-13-030 VL		DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	58
XPA-13-039 VL		DSVLT---QRP-- SASSTFGQGVITISCS	SSNIGNNY-- VSNVQQLGCTAPKLLIY	GRS	GRS	NRPSGVPRFSGSKSGTASIALSGLRSEDEADYYC	RAMDOS -LSPR-	VFGGGRKLTVLG	59

Tabla 1
Secuencias de cadena ligera

Nombre	N.º de Ac.	L-PR1	L-CDR1	L-PR2	L-CDR2	L-PR3	L-CDR3	L-PR4	SEC ID N.º
XPA-13-159 VL	Ab013	DSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	TSNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	SNMIDT-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	40
XPA-13-167 VL		QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QDI	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	41
XPA-13-169 VL	Ab034	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGSNT-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNN	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	42
XPA-13-013 VL	Ab006	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	TSNIGSNT-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	43
XPA-13-020 VL		QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	44
XPA-13-017 VL	Ab017	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	45
XPA-13-009 VL	Ab022	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	46
XPA-13-033 VL		QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	47
XPA-13-037 VL	Ab031	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	48
XPA-13-042 VL	Ab027	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	49
XPA-13-036 VL	Ab030	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	50
XPA-13-047 VL	Ab036	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	51
XPA-13-007 VL	Ab029	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	52
XPA-13-014 VL	Ab039	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	53
XPA-13-045 VL	Ab011	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	54
XPA-13-015 VL	Ab008	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	55
XPA-13-042 VL	Ab041	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	56
XPA-13-046 VL	Ab004	QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	57
XPA-13-030 VL		QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	58
XPA-13-039 VL		QSVLT--QRF-SASGPGQVPTISCSGS	SNIGNNY-	VSNVQQLGCTAPKLLIY	QNS	NRPSGVPDRFSGSKSGTASIAISGLRSEDEADYYC	RAMDOR-LAMP-	VEQGGTNTLVLG	59

Tabla 1
Secuencias de cadena ligera

Nombre	Nº de Ac	L-PR1	L-COR1	L-PR2	L-COR2	L-PR3	L-COR3	L-PR4	SEC ID Nº
XPA-15-102 VL	Ad044	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	TSNIGNYY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	QNS	NRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	LSMDOT- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	60	
XPA-15-115 VL	Ad046	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	LSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	QNS	NRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	AAWDD- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	61	
XPA-15-111 VL	Ad045	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	QNS	NRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	AAWDD- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	62	
XPA-15-142 VL		QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	NSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	RNN	QRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	SSTAGS- --NNEV	VFSGGTKLTVLG	63	
XPA-15-146 VL		QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	DSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	QNS	NRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	AAWDD- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	64	
XPA-15-144 VL		QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	QNS	NRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	TSTYGN- --NNEV	VFSGGTKLTVLG	65	
XPA-15-154 VL	Ad013	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	QNS	NRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	AAWDD- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	66	
XPA-15-150 VL	Ad014	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	R3D	QRLAGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	QSYDSS- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	67	
XPA-15-155 VL	Ad048	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	QNS	NRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	AAWDD- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	68	
XPA-15-165 VL	Ad049	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	QNS	NRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	AAWDD- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	69	
XPA-15-023 VL	Ad025	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	TSNIGNYY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	QNS	NRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	LSMDOT- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	70	
XPA-15-022 VL	Ad024	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	DNN	ERFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	AAWDD- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	71	
XPA-15-019 VL		QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	SNN	QRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	GTMDOS- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	72	
XPA-15-021 VL	Ad023	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	DNS	KRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	GTMDOS- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	73	
XPA-15-006 VL	Ad021	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	SNN	QRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	AAWDD- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	74	
XPA-15-026 VL	Ad026	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	QNS	NRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	AAWDD- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	75	
XPA-15-043 VL		QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	RNN	QRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	AAWDD- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	76	
XPA-15-040 VL	Ad037	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	DNN	KRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	GTMDOS- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	77	
XPA-15-062 VL		QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	QNS	NRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	AAWDD- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	78	
XPA-15-059 VL	Ad028	QSVLT---QPP- SASGTFQGRVTISC6S	SSNIGSNY- VSNYQQLPOTAPKLLTY	SNN	QRFSGVDFRFSGSKSGTSSASLATISGLASDEADYTC	AAWDD- -LNGL-	VFSGGTKLTVLG	79	

Tabla 1
Secuencias de cadena ligera

Nombre	Nº de Ac	L-FR1	L-COR1	L-FR2	L-COR2	L-FR3	L-COR3	L-FR4	SEC ID Nº
XPA-15-064 VL		QSVLT---OPP-- SASCTPGQRTVTSKSGS	SSNIGRRT-- SASCTPGQRTVTSKSGS	VWYQQLGCTAPKLLTY	DNH	KRFSGVPRFSGSKSGTASLAISGLASDEADATYC	ATWDD- -LSK-	VFGGCTALTVLG	80
XPA-15-068 VL	Ab013	QSVLT---OPP-- SASCTPGQRTVTSKSGS	TSNIGNNY-- SASCTPGQRTVTSKSGS	VWYQQLGCTAPKLLTY	GNS	MRPSGVPRFSGSKSGTASLAISGLASDEADATYC	SANDT- -LSK-	VFGGCTALTVLG	81
XPA-15-081 VL	Ab007	QSVLT---OPP-- SASCTPGQRTVTSKSGS	TSNIGNNY-- SASCTPGQRTVTSKSGS	VWYQQLGCTAPKLLTY	GNS	MRPSGVPRFSGSKSGTASLAISGLASDEADATYC	SANDT- -LSK-	VFGGCTALTVLG	82
XPA-15-065 VL	Ab038	QSVLT---OPP-- SASCTPGQRTVTSKSGS	SSNIGSNT-- SASCTPGQRTVTSKSGS	VWYQQLGCTAPKLLTY	SNH	QRFSGVPRFSGSKSGTASLAISGLASDEADATYC	ATWDD- -LSK-	VFGGCTALTVLG	83
XPA-15-073 VL	Ab040	QSVLT---OPP-- SASCTPGQRTVTSKSGS	SSNIGSNT-- SASCTPGQRTVTSKSGS	VWYQQLGCTAPKLLTY	DNH	KRFSGVPRFSGSKSGTASLAISGLASDEADATYC	ATWDD- -LSK-	VFGGCTALTVLG	84
XPA-15-077 VL	Ab042	QSVLT---OPP-- SASCTPGQRTVTSKSGS	SSNIGSNT-- SASCTPGQRTVTSKSGS	VWYQQLGCTAPKLLTY	SNH	QRFSGVPRFSGSKSGTASLAISGLASDEADATYC	ATWDD- -LSK-	VFGGCTALTVLG	85
XPA-15-086 VL		QSVLT---OPP-- SASCTPGQRTVTSKSGS	ASNLGNHF-- SASCTPGQRTVTSKSGS	VWYQQLGCTAPKLLTY	DND	QRFSGVPRFSGSKSGTASLAISGLASDEADATYC	QSTDS- -LSG-	VFGGCTALTVLG	86
XPA-015-175 VL	Ab019	DVLTQSPASLAVSLQQR ATISCRAS	KSVTSQYS KSVTSQYS	LHWYQKPGQPPKLLTY	LAS	NLESQVPRFSGSGSGTDFTLNHPVEEDDAATYC	QHNREP	RTFGGCTNLEIKR	1
XPA-015-176 VL	Ab080	DVLTQSPASLAVSLQQR ATISCRAS	KSVTSQYS KSVTSQYS	LHWYQKPGQPPKLLTY	LAS	NLESQVPRFSGSGSGTDFTLNHPVEEDDAATYC	QHNREP	RTFGGCTNLEIKR	2
XPA-015-177 VL		DVLTQSPASLAVSLQQR ATISCRAS	KSVTSQYS KSVTSQYS	LHWYQKPGQPPKLLTY	LAS	NLESQVPRFSGSGSGTDFTLNHPVEEDDAATYC	QHNREP	RTFGGCTNLEIKR	3
XPA-015-178 VL	Ab089	DVLTQSPASLAVSLQQR ATISCRAS	KSVTSQYS KSVTSQYS	LHWYQKPGQPPKLLTY	LAS	NLESQVPRFSGSGSGTDFTLNHPVEEDDAATYC	QHNREP	RTFGGCTNLEIKR	4
XPA-015-179 VL		DVLTQSPASLAVSLQQR ATISCRAS	KSVTSQYS KSVTSQYS	LHWYQKPGQPPKLLTY	LAS	NLESQVPRFSGSGSGTDFTLNHPVEEDDAATYC	QHNREP	RTFGGCTNLEIKR	5
XPA-015-181 VL	Ab010*	DVLTQSPASLAVSLQQR ATISCRAS	KSVTSQYS KSVTSQYS	LHWYQKPGQPPKLLTY	SGS	TLASGIPSRFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFNNYC	QHNREP	RTFGGCTNLEIKR	6
XPA-015-182 VL	Ab020	DVLTQSPASLAVSLQQR ATISCRAS	KSVTSQYS KSVTSQYS	LHWYQKPGQPPKLLTY	SGS	TLASGIPSRFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFNNYC	QHNREP	RTFGGCTNLEIKR	7
XPA-015-183 VL		DVLTQSPASLAVSLQQR ATISCRAS	KSVTSQYS KSVTSQYS	LHWYQKPGQPPKLLTY	LAS	NLESQVPRFSGSGSGTDFTLNHPVEEDDAATYC	QHNREP	RTFGGCTNLEIKR	8
XPA-015-184 VL		DVLTQSPASLAVSLQQR ATISCRAS	KSVTSQYS KSVTSQYS	LHWYQKPGQPPKLLTY	LAS	NLESQVPRFSGSGSGTDFTLNHPVEEDDAATYC	QHNREP	RTFGGCTNLEIKR	9
XPA-015-185 VL	Ab003	DVLTQSPASLAVSLQQR ATISCRAS	KSVTSQYS KSVTSQYS	LHWYQKPGQPPKLLTY	SGS	TLASGIPSRFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFNNYC	QHNREP	RTFGGCTNLEIKR	10
XPA-015-186 VL		DVLTQSPASLAVSLQQR ATISCRAS	KSVTSQYS KSVTSQYS	LHWYQKPGQPPKLLTY	LAS	NLESQVPRFSGSGSGTDFTLNHPVEEDDAATYC	QHNREP	RTFGGCTNLEIKR	11
XPA-015-187 VL	Ab008	DVLTQSPASLAVSLQQR ATISCRAS	KSVTSQYS KSVTSQYS	LHWYQKPGQPPKLLTY	LAS	NLESQVPRFSGSGSGTDFTLNHPVEEDDAATYC	QHNREP	RTFGGCTNLEIKR	12
XPA-015-188 VL		DVLTQSPASLAVSLQQR ATISCRAS	KSVTSQYS KSVTSQYS	LHWYQKPGQPPKLLTY	SGS	TLASGIPSRFSGSGSGTDFTLTISLLEPEDFNNYC	QHNREP	RTFGGCTNLEIKR	13

Tabla 1
Secuencias de cadena ligera

Nombre	Nº de Ac	L-FR1	L-COR1	L-FR2	L-COR2	L-FR3	L-COR3	L-FR4	SEC ID Nº
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	KSVISQYS	IMVYQKFGQPKLLIY	LAQ	NLESQVPARFSGSGCTDTIMHPVEEEDAGNYTC			14
XPA.015	AD002	ATISCRAS	Y	IMVYQKFGQPKLLIY	LAQ	QIHREP	QIHREP	RTFGGCKLEIKR	15
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	RLHSGVPRFSGSGCTDTIMHPVEEEDAGNYTC	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	16
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	17
XPA.015	AD005	ATISCRAS	SS	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	18
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	19
XPA.015	AD007	ATISCRAS	KY	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	20
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	87
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	88
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	89
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	90
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	91
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	92
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	93
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	94
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	95
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	96
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	97
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	98
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	99
XPA.015		QVMTQSPASISAVSGQR	QVTS----	IMVYQKFGQPKLLIY	YTS	QVTSOL	QVTSOL	YTFSGCKLEIKR	100

Tabla 1
Secuencias de cadena ligera

Nombre	N.º de Ac	L-FR1	L-COR1	L-FR2	L-COR2	L-FR3	L-COR3	L-FR4	SEC ID N.º
XPA.15.		QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	AMWQGLGTARLLIY	QNS	NRPSGVPRFSGSKSGTASLITGLQDEADYYC	QSYDSS	VEFGTKITVL	100
XPA.15.	Ab060	QAVTQPSASLSPGESA	SDINWRYN	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	101
XPA.15.		QAVTQPSASLSPGESA	SDINWRYN	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	102
XPA.15.	Ab061	QVVTQPSFVSUSPGTV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	103
XPA.15.	Ab062	QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	104
XPA.15.	Ab063	QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	105
XPA.15.	Ab064	QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	106
XPA.15.	Ab065	QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	107
XPA.15.	Ab066	QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	108
XPA.15.	Ab067	QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	109
XPA.15.	Ab068	QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	110
XPA.15.		QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	111
XPA.15.	Ab069	QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	112
XPA.15.		QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	113
XPA.15.		QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	114
XPA.15.		QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	115
XPA.15.		QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	116
XPA.15.		QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	117
XPA.15.		QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	118
XPA.15.	Ab070	QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	119
XPA.15.		QSVLTQPSVSGARQIV	SSNIGAGY	TYWYQPSSEPRYLLY	YTSQ	DOZSGVPSRFGSKGKSTNPGIIVTSGLOQDEADYYC	MTNSN	VFZGGTQITVL	120

Tabla 1
Secuencias de cadena ligera

Nombre	N° de Ac	L-FR1	L-COR1	L-FR2	L-COR2	L-FR3	L-COR3	L-FR4	SEC ID N°
XEA.15. 227	Ab071	SSELTDPAVSVALGQTV	SLRSY	ASNYQOHFGQAPVEVY	GRY	NRPSGIPDRFSGSKGNTASLTITGAQAEADAYC	NSHDS	VFQGGTKLTVL	120
XEA.15. 228	Ab072	SVULTQPFASGTFQQRV	NSNIGSNF	VTNYQQLPGAAKLLIY	TNS	QRPSGVDPDRFSGSKGCTASLATISGLOSEADAYC	AAWDS	VFQGGTKLTVL	121
XEA.15. 229	Ab073	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	122
XEA.15. 230	Ab074	SSELTDPAVSVALGQTV	SLRSY	ASNYQKHFGQAPVEVY	GRY	NRPSGIPDRFSGSKGNTASLTITGAQAEADAYC	NSHDS	VFQGGTKLTVL	123
XEA.15. 231	Ab075	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	ASNYQKHFGQAPVEVY	GRY	NRPSGIPDRFSGSKGNTASLTITGAQAEADAYC	NSHDS	VFQGGTKLTVL	124
XEA.15. 232	Ab076	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	125
XEA.15. 233	Ab077	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	126
XEA.15. 234	Ab078	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	127
XEA.15. 235	Ab079	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	128
XEA.15. 236	Ab080	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	129
XEA.15. 237	Ab081	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	130
XEA.15. 238	Ab082	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	131
XEA.15. 239	Ab083	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	132
XEA.15. 240	Ab084	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	133
XEA.15. 241	Ab085	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	134
XEA.15. 242	Ab086	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	135
XEA.15. 243	Ab087	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	136
XEA.15. 244	Ab088	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	137
XEA.15. 245	Ab089	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	138
XEA.15. 246	Ab090	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	139
XEA.15. 247	Ab091	QSVLTQPFVSAAFGQRY	SSNIGNNY	VTNYQHVPGTAPEKLLIF	DND	KRPSGIPDRFSGSKGCTATLATITGLCTGDEADAYC	GTWDS	VFQGGTKLTVL	140

466

Tabla 2
Secuencias de cadena pesada

Nombre	Nº de AC	H-FR1	H-CDR1	H-FR2	H-CDR2	H-FR3	H-CDR3	H-FR4	SEC ID Nº
XPA.015		QVQLQSGAEELVK	GYTFSSYV	MSWVKQRPGKLENIQ	LYPGDGD	NYNCKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		151
.172 VH		PGASVYISCKAS			T---		GYGAMY	WQQTSTVTS	151
XPA.015	Ad087	EVQLVESGGGLVK			IS--	DYPNCKGRFTISRDNKRNKLVLQHSILISEDSAVYFC	ARA----		155
.173 VH		PGSILKISCKAS	GYTFENYA	MSWVKQTPERRLEWAT	DGGHYI		TRFAY	WQQTSTVTS	155
XPA.015		QVQLQSGGPELVK			LYPGDGS	KSNCKFKGKATLTUTSTSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	AR-----		170
.174 VH		PGASVYISCKAS	GYTFESYD	INWVKQRPGQGLENIQ	T---		EFDY	WQQTSTVTS	170
XPA.015	Ad019	QVQLQSGAEELVK			LYPGDGD	NYNCKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		160
.175 VH		PGASVYISCKAS	GYTFENYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		GYGAMY	WQQTSTVTS	160
XPA.015	Ad088	QVQLQSGAEELVK			LYPGDGD	NYNCKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		153
.176 VH		PGASVYISCKAS	GYTFSSYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		GYGAMY	WQQTSTVTS	153
XPA.015		QVQLQSGAEELVK			LYPGDGD	NYNCKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		159
.177 VH		PGASVYISCKAS	GYTFSSYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		ARGVS-	WQQTSTVTS	159
XPA.015	Ad089	QVQLQSGAEELVK			LYPGDGD	NYNCKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		154
.178 VH		PGASVYISCKAS	GYTFSSYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		ARGVS-	WQQTSTVTS	154
XPA.015		EVQLQSGAEELVK			LYPGDGD	NYNCKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		161
.179 VH		PGASVYISCKAS	GYTFSSYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		ARGVS-	WQQTSTVTS	161
XPA.015	Ad010*	EVQLQSGPELVK			LYPNNGG	SYNCKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		163
.181 VH		PGASVYISCKAS	GYTFESYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		RGAMDI	WQQTSTVTS	163
XPA.015		EVQLQSGPELVK			LYPNNGG	SYNCKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		164
.182 VH		PGASVYISCKAS	GYTFESYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		RGAMDI	WQQTSTVTS	164
XPA.015	Ad020	EVQLQSGAEELVK			LYPGDGD	NYNCKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		155
.183 VH		PGASVYISCKAS	GYTFSSYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		GYGAMY	WQQTSTVTS	155
XPA.015		EVQLQSGAEELVK			LYPGDGD	RTNGKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		162
.184 VH		PGASVYISCKAS	GYTFESYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		RGAMDI	WQQTSTVTS	162
XPA.015	Ad003	EVQLQSGPELVK			LYPNNGG	RTNGKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		157
.185 VH		PGASVYISCKAS	GYTFESYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		ARGVS-	WQQTSTVTS	157
XPA.015		EVQLQSGAEELVK			LYPNNGG	RTNGKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		165
.186 VH		PGASVYISCKAS	GYTFESYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		YDF	WQQTSTVTS	165
XPA.015		EVQLQSGAEELVK			LYPNNGG	RTNGKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		166
.187 VH		PGASVYISCKAS	GYTFESYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		RGAMDI	WQQTSTVTS	166
XPA.015	Ad008	EVQLQSGAEELVK			LYPNNGG	RTNGKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		156
.188 VH		PGASVYISCKAS	GYTFESYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		RGAMDI	WQQTSTVTS	156
XPA.015		EVQLQSGAEELVK			LYPNNGG	RTNGKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		152
.189 VH		PGASVYISCKAS	GYTFESYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		RGAMDI	WQQTSTVTS	152
XPA.015	Ad002	EVQLQSGAEELVK			LYPNNGG	RTNGKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		167
.190 VH		PGASVYISCKAS	GYTFESYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		RGAMDI	WQQTSTVTS	167
XPA.015		EVQLQSGAEELVK			LYPNNGG	RTNGKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		166
.191 VH		PGASVYISCKAS	GYTFESYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		RGAMDI	WQQTSTVTS	166
XPA.015		EVQLQSGAEELVK			LYPNNGG	RTNGKFKGKATLTADKSGSTAYWQLSSLTSEDSAVYFC	ARGVS-		155
.192 VH		PGASVYISCKAS	GYTFESYV	MSWVKQRPGKLENIQ	T---		RGAMDI	WQQTSTVTS	155

Tabla 2

[illegible]

Tabla 2
Secuencias de cadena pesada

Nombre	Nº de AC	H-PR1	H-CDR1	H-PR2	H-CDR2	H-PR3	H-CDR3	H-PR4	SEC ID Nº
137					T				
XPA.15.	Ab055	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	VFTYNDV		
XPA.15.	Ab056	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	A	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	231
XPA.15.	Ab057	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	232
XPA.15.	Ab058	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	233
XPA.15.	Ab059	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	234
XPA.15.	Ab060	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	235
XPA.15.	Ab061	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	236
XPA.15.	Ab062	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	237
XPA.15.	Ab063	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	238
XPA.15.	Ab064	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	239
XPA.15.	Ab065	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	240
XPA.15.	Ab066	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	241
XPA.15.	Ab067	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	242
XPA.15.	Ab068	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	243
XPA.15.	Ab069	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	244
XPA.15.	Ab070	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	245
XPA.15.	Ab071	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	246
XPA.15.	Ab072	QVQLVSGAEVKK PSSSVKVSCKAS	QGTFSYA	ISWVRQAQPGGLENNGG	LIPIET	NYAKRFGQGVTTTADKSTSTAYNELSLRSEDTAVYC	YRQGVLF	MQQTLVTSS	247

Tabla 2
Secuencias de cadena pesada

Nombre	Nº de AC	H-FR1	H-CDR1	H-TR2	H-CDR2	H-FR3	H-CDR3	H-FR4	SEC ID Nº
XPA.15. 216	Ab067	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	ISWVRQA PGGLEMMGQ	ITFTFT A	NYAQKQGRVTITADESTISTAYNELSLASLSDTAVYTC	ARAGGVDF WSGYIGAEY FQH	WQGGTLVTSS	248
XPA.15. 217	Ab068	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGSPFSYT	FSWVRQA PGGLEMMGQ	TSYINGG TNYFA	NVALKFGKVTMTTISTATAYNELSLASLSDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	249
XPA.15. 218	Ab069	QVQLVDSGGLVQ EGSLRLSCPAAS	GTFTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	YDSIASNYP LDDI	WQGGTLVTSS	250
XPA.15. 219	Ab070	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	251
XPA.15. 220	Ab071	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	252
XPA.15. 221	Ab072	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	253
XPA.15. 222	Ab073	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	254
XPA.15. 223	Ab074	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	255
XPA.15. 224	Ab075	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	256
XPA.15. 225	Ab076	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	257
XPA.15. 226	Ab077	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	258
XPA.15. 227	Ab078	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	259
XPA.15. 228	Ab079	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	260
XPA.15. 229	Ab080	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	261
XPA.15. 230	Ab081	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	262
XPA.15. 231	Ab082	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	263
XPA.15. 232	Ab083	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	264
XPA.15. 233	Ab084	EVQLVDSGAEVKK PGSSVKVSCKAS	GGTSSYA	MSWVRQA PGGLEMMGQ	ISGSGGS T	YVADSVKGRFTISRDNSKNSLYLQNSLSRAEDTAVYTC	AREAVFPOY YDSIASNYP DD	WQGGTLVTSS	265

Tabla 2

[illegible]

Tabla 2
Secuencias de cadena pesada

Nombre	Nº de AC	H-PR1	H-CDR1	H-PR2	H-CDR2	H-PR3	H-CDR3	H-PR4	SEC ID N°
XPA-15-068 VH	Ab013	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTESSNY	MSWVRQAPGKGLVWSG	ISGSGGS	YVADSVKGRFTISDNKSNTLYIQHWISRAEDTAVYC	SSQNY-- --FDY-- ---	WGQGTLLTVSS	172
XPA-15-074 VH	Ab033	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTESS-YN	MSWVRQAPGKGLVWSG	ISGSGGY	SVADSVKGRFTISDNKSNTLYIQHWISRAEDTAVYC	---ARDS- -SDNY-- --INS-- ---	WGQGTLLTVSS	222
XPA-15-075 VH	Ab009	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTESS-VA	MSWVRQAPGKGLVWSG	ISGSGGT	YVADSVKGRFTISDNKSNTLYIQHWISRAEDTAVYC	---PR-- -HKGQ-- -ELDT-- ---	WGQGTLLTVSS	181
XPA-15-077 VH	Ab040	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTESS-YN	MSWVRQAPGKGLVWSG	ISKDGSS	YVADSVKGRFTISDNKSNTLYIQHWISRAEDTAVYC	---ARDR- -SDNY-- --QDY-- ---	WGQGTLLTVSS	157
XPA-15-080 VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTESS-YS	MSWVRQAPGKGLVWSG	ISGSGGR	YVADSVKGRFTISDNKSNTLYIQHWISRAEDTAVYC	---ARDG- -INSA-- -MDV-- ---	WGQGTLLTVSS	224
XPA-15-081 VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTESSNY	MSWVRQAPGKGLVWSG	ISGSGGS	YVADSVKGRFTISDNKSNTLYIQHWISRAEDTAVYC	---ARDG- -INSA-- -MDV-- ---	WGQGTLLTVSS	173
XPA-15-082 VH	Ab041	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTESS-VA	MSWVRQAPGKGLVWSG	ISGSGGT	YVADSVKGRFTISDNKSNTLYIQHWISRAEDTAVYC	---ARDL- -HMDG-- ---	WGQGTLLTVSS	186
XPA-15-086 VH	Ab042	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTESS-VA	MSWVRQAPGKGLVWSG	ISGSGGT	YVADSVKGRFTISDNKSNTLYIQHWISRAEDTAVYC	---ARDL- -HMDG-- ---	WGQGTLLTVSS	184
XPA-15-088 VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTESS-YN	MSWVRQAPGKGLVWSG	ISGSGGT	YVADSVKGRFTISDNKSNTLYIQHWISRAEDTAVYC	---ARDL- -HMDG-- ---	WGQGTLLTVSS	167
XPA-15-093 VH	Ab032	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GFTESS-VA	MSWVRQAPGKGLVWSG	ISGSGGT	YVADSVKGRFTISDNKSNTLYIQHWISRAEDTAVYC	---ARDL- -HMDG-- ---	WGQGTLLTVSS	177

Tabla 2
Secuencias de cadena pesada

Nombre	Nº de AC	H-FR1	H-CDR1	H-FR2	H-CDR2	H-FR3	H-CDR3	H-FR4	SEC ID Nº
XPA-15-094 VH	Ab013	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	QTFESN- YA	MCWVRQAPGKGLVWS	ISGSGGT T	YTAQSYKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYVC	---AR--- -HKCLA--- -ELDY--- ---	WQDTLTAVSS	176
XPA-15-096 VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GETFSS- YS	MMWVRQAPGKGLVWS	TKDQGE T	YTVSVTGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYVC	---TTDL- GRYYDILTG YPAENY--- ---	WQDTLTAVSS	198
XPA-15-100 VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GETFSS- YN	MCWVRQAPGKGLVWS	VNNNGR T	YTAQSYKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYVC	---ARER- -GSMDTT- GYRNYTYG NDV	WQDTLTAVSS	168
XPA-15-102 VH	Ab044	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GETFSSNY -	MSWVRQAPGKGLVWS	ISGSGGT T	YTAQSYKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYVC	---ARVQ- SSQWYI--- EDY--- ---	WQDTLTAVSS	176
XPA-15-105 VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GETFSS- YA	MCWVRQAPGKGLVWS	ISGSGGT T	YTAQSYKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYVC	---ARDN- -SSSM--- -EDY--- ---	WQDTLTAVSS	159
XPA-15-106 VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GETFSS- YA	MTWVRQAPGKGLVWS	THAGGT -	YTAQSYKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYVC	---ARDL- -HWG--- ---	WQDTLTAVSS	105
XPA-15-110 VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GETFSS- YT	NDWVRQAPGKGLVWS	IMNNGS T	YTAQSYKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYVC	WGLGFDY- ---ARVK- -QTCST- SCIFDYTYG NDV	WQDTLTAVSS	200
XPA-15-111 VH	Ab045	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GETFSS- YN	MSWVRQAPGKGLVWS	ISGSGGT T	YTAQSYKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYVC	---AREL- -PENS--- -REDY--- ---	WQDTLTAVSS	225
XPA-15-115 VH	Ab046	EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GETFSS- YA	MCWVRQAPGKGLVWS	ISGSGGT T	YTAQSYKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYVC	---AR--- -HWGLD--- -ELDY--- ---	WQDTLTAVSF	182
XPA-15-120 VH		EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS	GETFSS- YN	MSWVRQAPGKGLVWS	TKDQGE K	YTVSVTGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLRADDTAVYVC	---ARDV- -G--- GGPFDI--- ---	WQDTLTAVSS	190

Tabla 2
Secuencias de cadena pesada

Nombre	Nº de AC	H-FR1	H-CDR1	H-FR2	H-CDR2	H-FR3	H-CDR3	H-FR4	SEC ID
XPA-15-121 VH	AB017	EVQLLESGGGLVQ PGSRLSCAAS	QFTTS- YA	MSWYRAQPGGLEWVS	I-... SGGST	YVADSKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLRPRADTAVYYC	---ARR- -ADQNF- GSMFDF- ---	WGQDTLVTS	202
XPA-15-122 VH		EVQLLESGGGLVQ PGSRLSCAAS	GETFN- YA	MSWYRAQPGGLEWVS	I-... SGGST	YVADSKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLRPRADTAVYYC	---ARR- ---GSV- GMFDF- ---	WGQDTLVTS	203
XPA-15-124 VH		EVQLLESGGGLVQ PGSRLSCAAS	GETFT- YV	MTWYRAQPGGLEWVS	IY- SGGST	YVADSKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLRPRADTAVYYC	---ARR- ---HMD- GMFDF- ---	WGQDTLVTS	201
XPA-15-125 VH		EVQLLESGGGLVQ PGSRLSCAAS	GETFD- YV	MSWYRAQPGGLEWVS	IY- SGGST	YVADSKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLRPRADTAVYYC	---ARR- ---PVG- SCHYD- ---	WGQDTLVTS	205
XPA-15-127 VH		EVQLLESGGGLVQ PGSRLSCAAS	GETFN- EA	VHWYRAQPGGLEWVS	IY- SGGST	YVADSKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLRPRADTAVYYC	---ARR- ---PVG- SCHYD- ---	WGQDTLVTS	204
XPA-15-133 VH		EVQLLESGGGLVQ PGSRLSCAAS	GETFS- YE	MSWYRAQPGGLEWVS	IY- SGGST	YVADSKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLRPRADTAVYYC	---ARR- ---PVG- SCHYD- ---	WGQDTLVTS	206
XPA-15-135 VH	AB001	EVQLLESGGGLVQ PGSRLSCAAS	GETFN- AA	MSWYRAQPGGLEWVS	IY- SGGST	YVADSKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLRPRADTAVYYC	---ARR- ---PVG- SCHYD- ---	WGQDTLVTS	207
XPA-15-136 VH	AB018	EVQLLESGGGLVQ PGSRLSCAAS	GETFS- YE	MSWYRAQPGGLEWVS	IY- SGGST	YVADSKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLRPRADTAVYYC	---ARR- ---PVG- SCHYD- ---	WGQDTLVTS	209
XPA-15-139 VH		EVQLLESGGGLVQ PGSRLSCAAS	GETFS- YV	MSWYRAQPGGLEWVS	IY- SGGST	YVADSKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLRPRADTAVYYC	---ARR- ---PVG- SCHYD- ---	WGQDTLVTS	208
XPA-15-140 VH		EVQLLESGGGLVQ PGSRLSCAAS	GETFS- YT	MSWYRAQPGGLEWVS	IY- SGGST	YVADSKGRFTISRDNSKNTLYIQMNSLRPRADTAVYYC	---ARR- ---PVG- SCHYD- ---	WGQDTLVTS	212

Tabla 2
Secuencias de cadena pesada

Nombre	Nº de AC	H-FR1	H-CDR1	H-FR2	H-CDR2	H-FR3	H-CDR3	H-FR4	SEC ID Nº
XPA-13-143 VH		EVQLLESGGGLVQ FGGSLLSCAS	GFYFSH- YA	MMWRQAEKGLEPWAR	INQOQSE K	YYVESVGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLAIEDAVYYC	---GRLA- -GG- AYNDY- ---		210
XPA-15-145 VH		EVQLLESGGGLVQ FGGSLLSCAS	GFYFSN- YA	MTSMRQSEKGLPWAV	ISGSQGT T	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLAIEDAVYYC	---AKAA- -GG- QVEDY- ---	WQGGTLVTSS	211
XPA-15-159 VH	Rb015	EVQLLESGGGLVQ FGGSLLSCAS	GFYFSNY -	NSMVRQAEKGLEPWSS	ISGSQGS T	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLAIEDAVYYC	---ARVG- -GG- YSGNYT- -EDY- ---	WQGGTLVTSS	174
XPA-15-163 VH		EVQLLESGGGLVQ FGGSLLSCAS	GFYFTN- VN	MMWRQAEKGLEPWVG	USMNSR T	HYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLAIEDAVYYC	---ARER- -GG- GTHITTYG RDV	WQGGTLVTSS	189
XPA-15-167 VH	Rb034	EVQLLESGGGLVQ FGGSLLSCAS	GFYFDQ- XG	NSMVRQAEKGLEPWVF	ISGSQGS T	NYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLAIEDAVYYC	---ARVG- -GG- SSGNYT- -EDY- ---		213
XPA-15-169 VH	Rb016	EVQLLESGGGLVQ FGGSLLSCAS	GFYESS- YH	NSMVRQAEKGLEWES	I- EGGST	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLAIEDAVYYC	---ARV- -GG- SMGREDI- ---	WQGGTLVTSS	214
XPA-15-171 VH		EVQLLESGGGLVQ FGGSLLSCAS	GFYFSD- YV	NSMVRQAEKGLEWVA	ISGSQGS T	YYADSVKGRFTISRDNSKNTLYLQMNSLAIEDAVYYC	---ARVG- -GG- SSGNYT- -EDY- ---		175
XPA-15-196	Rb053	EVQLVQSCAEVAK FGASVAVSCAS	GYTFQRY	MMWRQAEKGLEWPGW	INPNQGG T	RYAKRFQRYVHTDTSTISVAVWELRLRSDDTAVYYC	ARGSSSSNP - VTEYNDV	WQGGTLVTSS	303

Tabla 3

N.º de clon	N.º de anticuerpo	SEC ID N.º : de cadena ligera	SEC ID N.º: de cadena pesada
XPA.015.172		20	151
XPA.015.173	Ab087	18	169
XPA.015.174		19	170
XPA.015.175	Ab019	1	160
XPA.015.176	Ab088	2	153
XPA.015.177		3	159
XPA.015.178	Ab089	4	154
XPA.015.179		5	161
XPA.015.181	Ab010*	6	163
XPA.015.182		7	164
XPA.015.183	Ab020	8	155
XPA.015.184		9	162
XPA.015.185	Ab003	10	157
XPA.015.186		11	165
XPA.015.187		12	166
XPA.015.188	Ab008	13	156
XPA.015.189		14	152
XPA.015.190	Ab002	15	167
XPA.015.191		16	168
XPA.015.192		17	158
XPA.015.006	Ab021	74	288
XPA.015.007	Ab029	52	221
XPA.015.009	Ab022	46	289
XPA.015.013	Ab006	43	179
XPA.015.017	Ab017	45	216
XPA.015.019		72	290
XPA.015.020		44	215
XPA.015.021	Ab023	73	193
XPA.015.022	Ab024	71	192
XPA.015.023	Ab025	70	171
XPA.015.026	Ab026	75	194
XPA.015.033		47	217
XPA.015.036	Ab030	50	220
XPA.015.037	Ab031	48	218
XPA.015.042	Ab027	49	219
XPA.015.043		76	291
XPA.015.047	Ab036	51	180
XPA.015.048	Ab037	77	195
XPA.015.059	Ab028	79	191
XPA.015.062		78	292
XPA.015.064		80	196
XPA.015.065	Ab038	83	183
XPA.015.066	Ab004	57	223
XPA.015.068	Ab013	81	172
XPA.015.074	Ab039	53	222
XPA.015.075	Ab009	55	181
XPA.015.077	Ab040	84	197

Tabla 3

XPA.015.080		58	224
XPA.015.081		82	173
XPA.015.082	Ab041	56	186
XPA.015.085	Ab011	54	293
XPA.015.086	Ab042	85	184
XPA.015.088		86	187
XPA.015.093	Ab032	21	177
XPA.015.094	Ab043	23	178
XPA.015.096		22	198
XPA.015.099		59	294
XPA.015.100		26	188
XPA.015.102	Ab044	60	176
XPA.015.105		97	199
XPA.015.106		24	185
XPA.015.110		148	200
XPA.015.111	Ab045	62	225
XPA.015.115	Ab046	61	182
XPA.015.120		149	190
XPA.015.121	Ab047	28	202
XPA.015.122		29	203
XPA.015.124		27	201
XPA.015.125		31	205
XPA.015.127		30	204
XPA.015.133		32	206
XPA.015.135		33	207
XPA.015.138	Ab001	35	209
XPA.015.139	Ab018	34	208
XPA.015.140		39	212
XPA.015.141		37	295
XPA.015.142		63	296
XPA.015.143		36	210
XPA.015.144	Ab033	65	297
XPA.015.145		38	211
XPA.015.146		64	298
XPA.015.154		66	299
XPA.015.155		68	300
XPA.015.158	Ab014	67	301
XPA.015.159	Ab015	40	174
XPA.015.163		150	189
XPA.015.165	Ab049	69	302
XPA.015.167		41	213
XPA.015.169	Ab034	42	214
XPA.015.171	Ab016	151	175
XPA.015.193	Ab050	87	226
XPA.015.194	Ab051	88	227
XPA.015.195	Ab052	89	228
XPA.015.196	Ab053	90	229 (303)
XPA.015.197	Ab054	91	230
XPA.015.198	Ab055	92	231
XPA.015.199	Ab056	93	232

Tabla 3

XPA.015.200	Ab057	94	233
XPA.015.201		95	---
XPA.015.202	Ab058	96	234
XPA.015.203		97	235
XPA.015.204	Ab059	98	236
XPA.015.205		99	237
XPA.015.206		100	238
XPA.015.207	Ab060	101	239
XPA.015.208		102	240
XPA.015.209	Ab061	103	241
XPA.015.210		---	242
XPA.015.211	Ab062	104	243
XPA.015.212	Ab063	105	244
XPA.015.213	Ab064	106	245
XPA.015.214	Ab065	107	246
XPA.015.215	Ab066	108	247
XPA.015.216	Ab067	109	248
XPA.015.217	Ab068	110	249
XPA.015.218		111	250
XPA.015.219	Ab086	112	251
XPA.015.220		113	252
XPA.015.221		114	253
XPA.015.222	Ab069	115	254
XPA.015.223		116	255
XPA.015.224		117	256
XPA.015.225		118	257
XPA.015.226	Ab070	119	258
XPA.015.227	Ab071	120	259
XPA.015.228	Ab072	121	260
XPA.015.229	Ab073	122	261
XPA.015.230	Ab074	123	262
XPA.015.231		124	263
XPA.015.232	Ab075	125	264
XPA.015.233		126	265
XPA.015.234		127	266
XPA.015.235		128	267
XPA.015.236		129	268
XPA.015.237		130	269
XPA.015.238		131	270
XPA.015.239		132	271
XPA.015.240		---	272
XPA.015.241	Ab076	133	273
XPA.015.242		134	274
XPA.015.243	Ab077	135	275
XPA.015.244	Ab078	136	276
XPA.015.245	Ab079	137	277
XPA.015.246	Ab080	138	278
XPA.015.247	Ab081	139	279
XPA.015.248	Ab082	140	280
XPA.015.249	Ab083	141	281

Tabla 3

XPA.015.250	Ab084	142	282
XPA.015.272		143	283
XPA.015.275	Ab085	144	284
XPA.015.282		145	285
XPA.015.284		146	286
XPA.015.293		147	287