

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 608 321**

51 Int. Cl.:

C07K 16/10 (2006.01)

A61K 39/42 (2006.01)

A61P 31/16 (2006.01)

G01N 33/569 (2006.01)

A61K 39/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **12.07.2012** **PCT/EP2012/063637**

87 Fecha y número de publicación internacional: **17.01.2013** **WO13007770**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **12.07.2012** **E 12735516 (2)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **12.10.2016** **EP 2731967**

54 Título: **Moléculas de unión humanas capaces de neutralizar virus de la gripe A del grupo filogenético 1 y del grupo filogenético 2 y virus de la gripe B**

30 Prioridad:

14.07.2011 EP 11173953

14.07.2011 US 201161572417 P

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

07.04.2017

73 Titular/es:

JANSSEN VACCINES & PREVENTION B.V.
(100.0%)

Archimedesweg 4
2333 CN Leiden, NL

72 Inventor/es:

KWAKS, THEODORUS HENDRIKUS JACOBUS;
ZUIJDGEEST, DAVID A.T.M.;
VOGELS, RONALD y
FRIESEN, ROBERT HEINZ EDWARD

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Marta

ES 2 608 321 T3

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

DESCRIPCIÓN

Moléculas de unión humanas capaces de neutralizar virus de la gripe A del grupo filogenético 1 y del grupo filogenético 2 y virus de la gripe B

Campo de la invención

La invención se está relacionada con la medicina. En particular, la invención se refiere a moléculas de unión humanas capaces de neutralizar los virus de la gripe A tanto del grupo filogenético 1 como del grupo filogenético 2. En particular, la invención se refiere a moléculas de unión capaces de neutralizar los virus de la gripe A tanto del grupo filogenético 1 como del grupo filogenético 2, así como a virus de la gripe B. La invención se refiere además al diagnóstico, profilaxis y/o tratamiento de una infección causada por los virus de la gripe A de los grupos filogenéticos 1 y 2, y preferentemente también por virus de la gripe B.

Antecedentes de la invención

La infección por el virus de la gripe (también citada como "gripe" o "la gripe") es una de las enfermedades más comunes conocidas en el ser humano que ocasiona entre tres y cinco millones de casos de enfermedad grave y entre 250.000 y 500.000 cada año en todo el mundo. La gripe se disemina rápidamente en epidemias estacionales que afectan a un 5-15% de la población y la carga en cuanto a costes para los servicios sanitarios es elevada (Organización Mundial de la Salud (OMS)).

Existen 3 tipos de virus de la gripe (los tipos A, B y C) responsables de patologías infecciosas en seres humanos y animales. Los virus de tipo A y de tipo B son los agentes responsables de las epidemias y pandemias estacionales de gripe observadas en seres humanos.

Los virus de la gripe A pueden clasificarse en subtipos de virus de gripe basándose en variaciones en las regiones antigénicas de dos genes que codifican las glucoproteínas de la envuelta hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) que son necesarias para la unión vírica y la liberación en la célula. Actualmente, se conocen dieciséis subtipos de HA (H1-H16) y nueve variantes antigénicas de NA (N1-N9) en el virus de la gripe A. Los subtipos de virus de la gripe A pueden clasificarse además por referencia a su grupo filogenético. El análisis filogenético (Fouchier et al., 2005) ha demostrado una subdivisión de las HA que comprende dos grupos principales (Air, 1981): entre otros, los subtipos H1, H2, H5 y H9 en el grupo filogenético 1 (también citado en el presente documento como "grupo 1") y entre otros, los subtipos H3, H4 y H7 en el grupo filogenético 2 (o "grupo 2"). Solo algunos de los subtipos de gripe A (es decir, H1N1, H1N2 y H3N2) circulan entre personas, pero en animales, se han identificado todas las combinaciones de los 16 subtipos de HA y los 9 de NA, en particular en especies aviarias. Los animales infectados por gripe A a menudo actúan como reservorio para los virus de la gripe y se ha demostrado que algunos subtipos atraviesan la barrera entre especies hacia los seres humanos, tales como la cepa H5N1 de gripe A altamente patógena.

Las cepas de virus de la gripe de tipo B son estrictamente humanas. Las variaciones antigénicas en HA dentro de los virus de la gripe de tipo B son más débiles que las observadas dentro de las cepas de tipo A. En los seres humanos circulan dos linajes genética y antigénicamente distintos de virus de la gripe B, representados por los linajes B/Yamagata/16/88 (también citado como B/Yamagata) y B/Victoria/2/87 (B/Victoria) (Ferguson et al., 2003). Aunque el espectro de enfermedad causada por los virus de la gripe B es generalmente más leve que el causado por los virus de la gripe A, se sigue observando una enfermedad grave que requiere de hospitalización con la infección por gripe B.

Las estrategias actuales para lidiar con las epidemias anuales de gripe incluyen vacunación anual, preferentemente generando protección cruzada heterotípica. Sin embargo, los virus de la gripe circulantes en seres humanos están sometidos a cambios antigénicos permanentes que obligan a adaptar la formulación de vacuna para la gripe para asegurar la coincidencia más exacta posible entre las cepas de vacuna de gripe y las cepas circulantes de gripe. Aunque la vacunación anual con vacunas para la gripe es la mejor manera de prevenir la gripe, los fármacos antivíricos, tales como oseltamivir (Tamiflu®) pueden ser eficaces para la prevención y tratamiento de la infección por gripe. Sin embargo, el número de cepas de virus de la gripe que muestran resistencia a los fármacos antivíricos, tales como oseltamivir, está aumentando.

Una estrategia alternativa es el desarrollo de tratamientos profilácticos o terapéuticos basados en anticuerpos para neutralizar diversos virus de la gripe estacionales y pandémicos. La diana principal de la mayoría de los anticuerpos neutralizantes que protegen contra la infección por el virus de la gripe es la cabeza globular (parte HA1) de la proteína HA vírica que contiene el sitio de unión a receptor, pero que está sometida a evolución genética continua con sustituciones de aminoácidos en los sitios de unión a anticuerpo (deriva antigénica).

Recientemente, se han identificado anticuerpos con neutralización cruzada amplia que reconocen un epítipo en la región de tallo conservada de la hemaglutinina de los virus de la gripe A del grupo filogenético 1 (incluyendo, por ejemplo, los subtipos de gripe H1 y H5) (véase, por ejemplo, el documento WO2008/028946 y Ekiert et al., Science 324(5924): 246-251, 2009), así como anticuerpos con neutralización cruzada que reconocen un epítipo altamente

conservado en la región de tallo de HA de los virus de la gripe A del grupo filogenético 2 (incluyendo, por ejemplo, los subtipos H3 y H7) (documento WO 2010/130636). La actividad neutralizante de estos anticuerpos está restringida a los virus de la gripe del grupo 1 o del grupo 2. Además, estos anticuerpos no son capaces de unirse a, y neutralizar, los virus de la gripe B.

5 Además, el documento WO 2010/010466 divulga un anticuerpo humano FI6 que se une a hemaglutinina y que es capaz de unirse a y neutralizar a los subtipos de gripe A del grupo 1 (incluyendo los subtipos H1 y H5) y del grupo 2 (incluyendo los subtipos H3 y H7). Este anticuerpo tampoco se une a la HA de los virus de la gripe B.

10 Además, el documento US 2009/0092620 divulga un anticuerpo murino que reconoce una estructura antigénica presente en la hemaglutinina de los tipos H1 y H3 y en la hemaglutinina de los virus de la gripe B que pertenecen a los grupos B/Victoria y B/Yamagata. Los anticuerpos inhiben la actividad de hemaglutinación de varias cepas de H3N2, lo que implica que este anticuerpo se une a un epítipo en la cabeza globular de HA.

15 Sui et al. (Nature Structural and Molecular Biology 16(3): 265-273, 2009) divulgaron anticuerpos que son eficaces únicamente contra los virus de la gripe del grupo 1. A la vista de la gravedad de la enfermedad respiratoria causada por los virus de la gripe A y de la gripe B, así como del elevado impacto económico de las epidemias estacionales, y del continuo riesgo de pandemias, existe una necesidad continua de medios eficaces para la prevención y tratamiento de los subtipos A y B de gripe. Por lo tanto, existe la necesidad de moléculas de unión, preferentemente
20 moléculas de unión humanas ampliamente neutralizantes, capaces de neutralizar de manera cruzada a los virus de la gripe A tanto del grupo filogenético 1 como del grupo filogenético 2, y preferentemente también a virus de la gripe B.

Sumario de la invención

25 La invención proporciona moléculas de unión capaces de unirse específicamente a cepas de virus de la gripe A tanto del grupo filogenético 1 (incluyendo, por ejemplo, virus de la gripe que comprenden HA de los subtipos H1 y H5) y cepas de virus de la gripe A del grupo filogenético 2 (incluyendo, por ejemplo, virus de la gripe que comprenden HA de los subtipos H3 y H7). En una realización, las moléculas de unión también tienen actividad
30 neutralizante contra cepas del virus de la gripe A tanto del grupo filogenético 1 como del grupo filogenético 2. De acuerdo con la invención, las moléculas de unión son capaces además de unirse específicamente a cepas de virus de la gripe B, incluyendo, por ejemplo, las cepas del virus de la gripe B de los linajes B/Yamagata y/o B/Victoria. En una realización, las moléculas de unión son capaces además de neutralizar a cepas de virus de la gripe B, incluyendo, por ejemplo, las cepas del virus de la gripe B de los linajes B/Yamagata y/o B/Victoria. En una
35 realización, las moléculas de unión son capaces de neutralizar *in vivo* a las cepas del virus de la gripe A y/o B. En una realización, las moléculas de unión se unen a un epítipo conservado en la región de tallo de la proteína HA de los virus de la gripe A y B. En una realización, las moléculas de unión no tienen actividad inhibidora de la hemaglutinación (HI).

40 Por lo tanto, la invención proporciona moléculas de unión que se unen a un epítipo en la región de tallo de la proteína hemaglutinina que está compartido entre los subtipos del virus de la gripe A dentro del grupo filogenético 1 y los subtipos del virus de la gripe dentro del grupo filogenético 2, así como subtipos de virus de la gripe B, y por lo tanto se refiere a moléculas de unión que reaccionan de manera cruzada con los subtipos de virus de la gripe A tanto del grupo 1 como del grupo 2 y con virus de la gripe B. La invención también se refiere a moléculas de ácido
45 nucleico que codifican al menos la región de unión de las moléculas de unión humanas.

Las moléculas de unión y/o las moléculas de ácido nucleico de la invención son adecuadas para su uso como agente profiláctico, diagnóstico y/o de tratamiento universal para los virus de la gripe A y los virus de la gripe B, incluso independientemente del subtipo de gripe causante.

50 Se baraja la hipótesis de que las moléculas de unión de acuerdo con la presente invención se unen a epítopos hasta ahora desconocidos y altamente conservados que no son propensos o que son mucho menos propensos a la deriva o cambio antigénico. En particular, este epítipo es compartido entre virus de la gripe que pertenecen tanto al grupo filogenético 1 como al grupo filogenético 2, y virus de la gripe B. También se contempla usar las moléculas de unión
55 de la invención para identificar y/o caracterizar estos epítopos.

La invención proporciona además el uso de las moléculas de unión humanas y/o de las moléculas de ácido nucleico de la invención en el diagnóstico, profilaxis y/o tratamiento de un sujeto que tiene, o está en riesgo de desarrollar, una infección por el virus de la gripe. Además, la invención se refiere al uso de las moléculas de unión humanas y/o
60 de las moléculas de ácido nucleico de la invención en el diagnóstico/detección de dichas infecciones por gripe.

Descripción de las figuras

65 La FIG. 1 muestra el bloqueo del cambio conformacional de las HA H1, H5, H9, H3, y H7 por CR9114. (A) Unión FACS de CR9114 a diversas conformaciones - precursor no escindido (HA0); pH neutro, escindido (HA); pH de fusión, escindido (pH de fusión) - de rHA expresada superficialmente de A/New Caledonia/20/1999 (H1)

A/Vietnam/1203/2004 (H5), A/Hong Kong/1073/1999 (H9), A/Wisconsin/67/2005 (H3), y A/Netherlands/219/2003 (H7).

La unión se expresa como el porcentaje de unión a rHA no reaccionada (HA0). (B) Unión FACS de CR9114 a HA expresada en superficie como en el caso anterior, salvo por que se añadió el mAb CR9114 antes de la exposición de las HA escindidas a un pH de 4,9.

La FIG. 2 muestra que el mAb CR9114 compite con CR6261 y CR8020 por la unión a H1 y H3, respectivamente. Grado de unión adicional de los mAb indicados a HA inmovilizada de A/New Caledonia/20/1999 (H1N1) saturados con 100 nM de CR6261 o CR9114 (paneles A y B), o a HA inmovilizada de A/Wisconsin/67/2005 (H3N2) saturados con 100 nM de CR8020 o CR9114 (paneles C y D), medido usando interferometría de biocapas.

La FIG. 3 demuestra la eficacia profiláctica de CR9114 en el modelo de exposición letal de ratón con virus de la gripe B (B/Florida/04/2006). A. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier de ratones tratados por vía intravenosa con 15 mg/kg de CR9114 o con control de vehículo en el día -1 antes de la exposición, seguido de una exposición en el día 0 a 25 DL de B/Florida/04/2006. B. Cambio medio en el peso corporal (%) en relación al día 0. Las barras representan un IC del 95% de la media. En caso de muerte/eutanasia de un ratón durante el estudio, se arrastró el último peso corporal observado. C. Mediana de puntuaciones clínicas. Las barras representan los intervalos intercuartil. Explicación de la puntuación clínica: 0=sin signos clínicos; 1=pelo duro; 2=pelo duro, menos reactivo durante la manipulación; 3=pelo duro, enroscado, dificultad respiratoria, menos reactivo durante la manipulación; 4=pelo duro, enroscado, dificultad respiratoria, respuesta inactiva a manipulaciones.

Descripción de la invención

A continuación, se proporcionan definiciones de términos empleados en la presente invención.

El término "incluido" o "que incluye", tal como se usa en el presente documento, se considera acompañado de las palabras "sin limitación".

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "molécula de unión" se refiere a una inmunoglobulina intacta, incluyendo anticuerpos monoclonales, tales como anticuerpos monoclonales quiméricos, humanizados o humanos, o a un dominio de unión a antígeno y/o variable que comprende un fragmento de una inmunoglobulina que compite con la inmunoglobulina intacta por la unión específica al compañero de unión de la inmunoglobulina, por ejemplo, HA. Independientemente de su estructura, el fragmento de unión a antígeno se une al mismo antígeno que el reconocido por la inmunoglobulina intacta. Un fragmento de unión a antígeno puede comprender un péptido o polipéptido que comprende una secuencia de aminoácidos de al menos 2, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 70, 80, 90, 100, 125, 150, 175, 200, o 250 restos de aminoácidos contiguos de la secuencia de aminoácidos de la molécula de unión.

La expresión "molécula de unión", tal como se usa en el presente documento, incluye todas las clases y subclases de inmunoglobulinas conocidas en la técnica. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del dominio constante de sus cadenas pesadas, las moléculas de unión pueden dividirse en las cinco clases principales de anticuerpos intactos: IgA, IgD, IgE, IgG, e IgM, y varias de estas clases se puede subdividir en subclases (isotipos), por ejemplo, IgA1, IgA2, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4.

Los fragmentos de unión a antígeno incluyen, entre otras cosas, fragmentos Fab, F(ab')₂, Fv, dAb, Fd, de regiones determinantes de la complementariedad (CDR), anticuerpos monocatenarios (scFv), anticuerpos bivalentes monocatenarios, anticuerpos de fago monocatenarios, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, (poli)péptidos que contienen al menos un fragmento de una inmunoglobulina que es suficiente para conferir unión a antígeno específica al (poli)péptido, etc. Los fragmentos anteriores pueden producirse sintéticamente o mediante escisión enzimática o química de inmunoglobulinas o pueden modificarse genéticamente mediante técnicas de ADN recombinante. Los métodos de producción son de sobra conocidos en la técnica y se describen, por ejemplo, en Antibodies: A Laboratory Manual, Editado por: E. Harlow y D. Lane (1988), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, Nueva York, que se incorpora al presente documento por referencia. Una molécula de unión o un fragmento de unión a antígeno de la misma puede tener uno o más sitios de unión. En caso de haber más de un sitio de unión, los sitios de unión pueden ser idénticos entre sí o pueden ser diferentes.

La molécula de unión puede ser una molécula de unión desnuda o no conjugada pero también puede formar parte de un inmunconjugado. Una molécula de unión desnuda o no conjugada pretende hacer referencia a una molécula de unión que no está conjugada, unida operativamente o de otro modo asociada física o funcionalmente con un resto efector o un marcador, tal como, entre otras cosas, a una sustancia tóxica, una sustancia radiactiva, un liposoma, una enzima. Se entenderá que las moléculas de unión desnudas o no conjugadas no excluyen moléculas de unión que se han estabilizado, multimerizado, humanizado o de cualquier otro modo manipulado, aparte de por la unión de un resto efector o de un marcador. Por consiguiente, en el presente documento se incluyen todas las

moléculas de unión no conjugadas desnudas modificadas post-traduccionamente, incluyendo casos donde las modificaciones se efectúan en el ambiente natural de la célula productora de la molécula de unión, por una célula recombinante productora de la molécula de unión, y se introducen mediante intervención humana después de la preparación inicial de la molécula de unión. Por supuesto, la expresión molécula de unión desnuda o no conjugada no excluye la capacidad de la molécula de unión para formar asociaciones funcionales con células y/o moléculas efectoras después de su administración al organismo, ya que algunas de dichas interacciones son necesarias para producir un efecto biológico. Por lo tanto, por definición, se aplica la ausencia de grupo efector o de marcador a la molécula de unión desnuda o no conjugada *in vitro*, no *in vivo*.

Tal como se usa en el presente documento, la expresión "muestra biológica" abarca una diversidad de tipos de muestra, incluyendo muestras de sangre y de otros fluidos de origen biológico, muestras de tejido sólido, tales como especímenes de biopsia o cultivos de tejidos, o células procedentes de los mismos y la descendencia de las mismas. El término también incluye muestras que se han manipulado de cualquier modo después de su obtención, tal como mediante tratamiento con reactivos, solubilización, o enriquecimiento respecto de determinados componentes, tales como proteínas o polinucleótidos. El término abarca diversos tipos de muestras clínicas obtenidas de cualquier especie, y también incluye células en cultivo, sobrenadantes celulares y lisados celulares.

La expresión "regiones determinantes de la complementariedad" (CDR), tal como se usa en el presente documento, significa secuencias dentro de las regiones variables de las moléculas de unión, tales como las inmunoglobulinas, que normalmente contribuyen en gran medida al sitio de unión a antígeno que es complementario en cuanto a forma y distribución de carga al epítipo reconocido sobre el antígeno. Las regiones CDR pueden ser específicas para epítopos lineales, epítopos discontinuos, o epítopos conformacionales de proteínas o fragmentos de proteínas, ya estén presentes en la proteína en su conformación nativa o, en algunos casos, presente en las proteínas en estado desnaturalizado, por ejemplo, mediante solubilización en SDS. Los epítopos también pueden consistir en modificaciones postraduccionales de las proteínas.

El término "eliminación", tal como se usa en el presente documento, indica un cambio en la secuencia de aminoácidos o de nucleótidos en la que uno o más restos de aminoácidos o de nucleótidos, respectivamente, están ausentes en comparación con la molécula de referencia, normalmente de origen natural.

La expresión "secuencia de ácido nucleico reguladora de la expresión" tal como se usa en el presente documento, se refiere a secuencias de polinucleótidos necesarias para y/o que afectan a la expresión de una secuencia codificante unida operablemente en un organismo hospedador concreto. La expresión "secuencias de ácido nucleico reguladoras de la expresión", tales como, entre otras, secuencias de inicio, terminación, promotoras, potenciadoras de la transcripción adecuadas; secuencias represoras o activadoras; señales eficaces de procesamiento de ARN, tales como señales de corte y empalme y de poliadenilación; secuencias que estabilizan el ARNm citoplasmático; secuencias que potencian la eficacia de la traducción (por ejemplo, sitios de unión a ribosomas); secuencias que potencian la estabilidad de la proteína; y cuando se desee, secuencias que potencian la secreción de la proteína, puede ser cualquier secuencia de ácido nucleico que muestre actividad en el organismo hospedador elegido y puede derivarse de genes que codifican proteínas, que son homólogos o heterólogos para el organismo hospedador. La identificación y el empleo de secuencias reguladoras de la expresión es rutinario para el experto en la materia.

La expresión "variante funcional", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una molécula de unión que comprende una secuencia de nucleótidos y/o de aminoácidos que está alterada en uno o más nucleótidos y/o aminoácidos en comparación con las secuencias de nucleótidos y/o aminoácidos de la molécula de unión de referencia y que es capaz de competir por la unión al compañero de unión, es decir, el virus de la gripe, con la molécula de unión de referencia. En otras palabras, las modificaciones en la secuencia de aminoácidos y/o de nucleótidos de la molécula de unión de referencia no alteran o afectan de manera significativa las características de unión de la molécula de unión codificada por la secuencia de nucleótidos o que contiene la secuencia de aminoácidos, es decir, la molécula de unión sigue siendo capaz de reconocer y de unirse a su diana. La variante funcional puede tener modificaciones conservativas de secuencia, incluyendo sustituciones, adiciones y eliminaciones de nucleótidos y aminoácidos. Estas modificaciones pueden introducirse mediante técnicas convencionales conocidas en la técnica, tales como mutagénesis de sitio dirigido y mutagénesis aleatoria mediada por la PCR, y pueden comprender nucleótidos y aminoácidos tanto naturales como no naturales.

Las sustituciones conservativas de aminoácidos incluyen aquellas en las que el resto de aminoácido se reemplaza con un resto de aminoácido que tiene propiedades estructurales o químicas similares. Se han definido en la técnica familias de aminoácidos que tienen cadenas laterales similares. Estas familias incluyen aminoácidos con cadenas laterales básicas (por ejemplo, lisina, arginina, histidina), cadenas laterales ácidas (por ejemplo, ácido aspártico, ácido glutámico), cadenas laterales polares no cargadas (por ejemplo, asparagina, glutamina, serina, treonina, tirosina, cisteína, triptófano), cadenas laterales no polares (por ejemplo, glicina, alanina, valina, leucina, isoleucina, prolina, fenilalanina, metionina), cadenas laterales beta-ramificadas (por ejemplo, treonina, valina, isoleucina) y cadenas laterales aromáticas (por ejemplo, tirosina, fenilalanina, triptófano). Será evidente para el experto en la materia que pueden emplearse otras clasificaciones de familias de restos de aminoácidos distintas de la empleada anteriormente. Además, una variante puede tener sustituciones de aminoácidos no conservativas, por ejemplo, reemplazo de un aminoácido con un resto de aminoácido que tiene propiedades estructurales o químicas diferentes.

Las variaciones menores similares también pueden incluir eliminaciones o inserciones de aminoácidos, o ambas cosas. Puede obtenerse una orientación para determinar qué restos de aminoácido pueden sustituirse, insertarse o eliminarse sin suprimir la actividad inmunológica mediante el uso de programas informáticos de sobra conocidos en la técnica.

Una mutación en una secuencia de nucleótidos puede ser una sola alteración efectuada en un locus (una mutación puntual), tal como mutaciones de transición o transversión, o como alternativa, pueden insertarse, eliminarse o cambiarse a múltiples nucleótidos en un solo locus. Además, se pueden efectuar una o más alteraciones en cualquier número de locus dentro de una secuencia de nucleótidos. Las mutaciones pueden efectuarse mediante cualquier método adecuado conocido en la técnica.

La expresión "subtipo de virus de la gripe", tal como se usa en el presente documento en relación a los virus de la gripe A, se refiere a variantes del virus de la gripe A que se caracterizan por varias combinaciones de las proteínas de la superficie vírica hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N). De acuerdo con la presente invención, puede hacerse referencia a los virus de la gripe mediante su número de H, tal como, por ejemplo, virus de la gripe que comprende HA del subtipo H1 o H3, o "virus de la gripe H1", "virus de la gripe H3", o mediante una combinación de un número de H y un número de N, tal como, por ejemplo, virus de la gripe de subtipo H3N2" o "H3N2".

El término "subtipo" de virus de la gripe incluye específicamente todas las "cepas" de virus de la gripe individuales dentro de cada subtipo, que normalmente son el resultado de mutaciones y muestran diferentes perfiles patogénicos. Dichas cepas pueden citarse también como diversos "aislados" de un subtipo vírico. Por consiguiente, tal como se usa en el presente documento, los términos "cepas" y "aislados" pueden usarse de manera intercambiable. La nomenclatura actual para las cepas o aislados de virus de la gripe incluyen la localización geográfica de donde se aisló por primera vez, el número de cepa y el año en que se aisló, normalmente con la descripción antigénica de HA y NA proporcionada entre paréntesis, por ejemplo, A/Moscow/10/00 (H3N2). Las cepas no humanas incluyen también el hospedador de origen en su nomenclatura.

El término "neutralizante", tal como se usa en el presente documento en relación a las moléculas de unión de la invención, se refiere a moléculas de unión que inhiben la infección replicativa a una célula diana por el virus de la gripe, independientemente del mecanismo mediante el que se consigue la neutralización. Por lo tanto, puede lograrse la neutralización, por ejemplo, inhibiendo el acoplamiento o la adhesión del virus a la superficie de la célula, o inhibiendo la fusión de las membranas víricas y celulares después del acoplamiento del virus a la célula diana, y similares.

Las expresiones "que neutraliza de manera cruzada" o "neutralización cruzada", tal como se usan en el presente documento en relación a las moléculas de unión de la invención, se refiere a la capacidad de las moléculas de unión de la invención para neutralizar diferentes subtipos de virus de la gripe A y/o B.

El término "hospedador", tal como se usa en el presente documento, pretende hacer referencia a un organismo o una célula en la se ha introducido un vector, tal como un vector de clonación o un vector de expresión. El organismo o la célula puede ser procariota o eucariota. Preferentemente, las células hospedadoras aisladas del hospedador, por ejemplo, células hospedadoras en cultivo. La expresión "células hospedadoras" significa simplemente que las células se modifican para la (sobre)expresión de las moléculas de unión de la invención e incluyen células B que expresan originalmente estas moléculas de unión, habiéndose modificado estas células para que sobreexpresen la molécula de unión mediante immortalización, amplificación, potenciación de la expresión, etc. Debe entenderse que el término hospedador pretende hacer referencia no solo al organismo o célula objeto, sino también a la descendencia de dicho organismo o célula. Debido a que pueden producirse determinadas modificaciones en generaciones posteriores debido a mutaciones o a influencias ambientales, dicha descendencia puede no ser, de hecho, idéntica al organismo o célula progenitora, pero aun así se incluyen dentro del alcance del término "hospedador", tal como se usa en el presente documento.

El término "humano", cuando se aplica a moléculas de unión tal como se definen en el presente documento, se refiere a moléculas que bien proceden directamente de un ser humano o que se basan en una secuencia de línea germinal humana. Cuando una molécula de unión procede o está basada en una secuencia humana y se modifica posteriormente, aún se considera humana, tal como se usa a lo largo de la memoria descriptiva. En otras palabras, el término humano, cuando se aplica a moléculas de unión, pretende incluir moléculas de unión que tienen regiones variables y constantes procedentes de secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana o basadas en regiones variables o constantes presentes en un ser humano o un linfocito humano y que se modifican de algún modo. Por lo tanto, las moléculas de unión humanas pueden incluir restos de aminoácidos no codificados por secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana, comprender sustituciones y/o eliminaciones (por ejemplo, mutaciones introducidas, por ejemplo, mediante mutagénesis aleatoria o de sitio específico *in vitro* o mediante mutación somática *in vivo*). "Basado en", tal como se usa en el presente documento, se refiere a aquella situación en la que un ácido nucleico pueda ser una copia exacta a partir de un molde, o con mutaciones menores, tales como mediante métodos de PCR propensa a errores, o producido sintéticamente imitando de manera exacta al molde o con modificaciones menores.

El término "inserción", también conocido como el término "adición", indica un cambio en una secuencia de aminoácidos o de nucleótidos que da como resultado la adición de uno o más restos de aminoácidos o de nucleótidos, respectivamente, en comparación con la secuencia progenitora.

El término "aislado", cuando se aplica a moléculas de unión tal como se definen en el presente documento, se refiere a moléculas de unión que se encuentran sustancialmente libres de otras proteínas o polipéptidos, en particular, libres de otras moléculas de unión que tengan especificidades antigénicas diferentes, y que también se encuentran sustancialmente libres de otros materiales celulares y/o agentes químicos. Por ejemplo, cuando se producen de manera recombinante las moléculas de unión, preferentemente se encuentran sustancialmente libres de componentes del medio de cultivo, y cuando las moléculas de unión se producen mediante síntesis química, preferentemente se encuentran sustancialmente libres de precursores químicos u otros agentes químicos, *es decir*, se separan de los precursores químicos u otros agentes químicos que están implicados en la síntesis de la proteína. El término "aislado" cuando se aplica a moléculas de ácido nucleico que codifican moléculas de unión tal como se definen en el presente documento, pretende hacer referencia a moléculas de ácido nucleico en las que secuencias de nucleótidos que codifican las moléculas de unión se encuentran libres de otras secuencias de nucleótidos, en particular, secuencias de nucleótidos que codifican moléculas de unión que se unen a otros compañeros de unión. Además, el término "aislado" se refiere a moléculas de ácido nucleico que se encuentran sustancialmente separadas de otros componentes que acompañan naturalmente a la molécula de ácido nucleico nativa en el hospedador natural, *por ejemplo*, ribosomas, polimerasas, o secuencias genómicas con las que se asocia naturalmente. Además, las moléculas de ácido nucleico "aisladas", tales como moléculas de ADNc, pueden encontrarse sustancialmente libres de otro material celular, o medio de cultivo cuando se producen mediante técnicas recombinantes, o sustancialmente libre de precursores químicos u otros compuestos químicos cuando se sintetizan químicamente.

La expresión "anticuerpo monoclonal", tal como se usa en el presente documento, se refiere a una preparación de moléculas de anticuerpo con una sola especificidad. Un anticuerpo monoclonal muestra una sola especificidad y afinidad de unión por un epítipo particular. Por consiguiente, la expresión "anticuerpo monoclonal humano" se refiere a un anticuerpo que muestra una sola especificidad de unión que tiene regiones variables y constantes procedentes de o basadas en secuencias de inmunoglobulina de línea germinal humana o que proceden de secuencias completamente sintéticas. El método para preparar el anticuerpo monoclonal no es relevante para la especificidad de unión.

La expresión "de origen natural", tal como se usa en el presente documento aplicada a un objeto, se refiere al hecho de que el objeto o compuesto puede encontrarse en la naturaleza. Por ejemplo, una secuencia de polipéptido o de polinucleótido que esté presente en un organismo que pueda aislarse de una fuente natural y que no se haya modificado por el ser humano de manera intencionada en un laboratorio es de origen natural.

La expresión "molécula de ácido nucleico", tal como se usa en la presente invención, se refiere a una forma polimérica de nucleótidos e incluye hebras tanto codificantes como no codificantes de ARN, ADNc, ADN genómico, y formas sintéticas y polímeros mixtos de las anteriores. Un nucleótido se refiere a un ribonucleótido, desoxinucleótido o a una forma modificada de cualquier tipo de nucleótido. El término también incluye formas de ADN mono y bicatenario. Además, un polinucleótido puede incluir cualquiera de o tanto nucleótidos de origen natural como modificados unidos entre sí mediante enlaces nucleotídicos de origen natural y/o de origen no natural. Las moléculas de ácido nucleico pueden modificarse química o bioquímicamente o pueden contener bases de nucleótidos no naturales o derivatizadas, tal como apreciarán fácilmente los expertos en la materia. Dichas modificaciones incluyen, por ejemplo, marcadores, metilación, sustitución de uno o más de los nucleótidos de origen natural con un análogo, modificaciones internucleótido, tales como enlaces cargados (por ejemplo, fosfonatos de metilo, fosfotriésteres, fosforamidatos, carbamatos, etc.), enlaces cargados (por ejemplo, fosforotioatos, fosforoditioatos, etc.), restos colgantes (por ejemplo, polipéptidos), intercalantes (por ejemplo, acridina, psoraleno, etc.), quelantes, alquilantes, y enlaces modificados (por ejemplo, ácidos nucleicos alfa-anoméricos, etc.). Se pretende que el término anterior incluya cualquier formación topológica, incluyendo conformaciones monocatenarias, bicatenarias, parcialmente bicatenarias, en horquilla, circulares y en candado. También se incluyen moléculas sintéticas que imiten a los polinucleótidos en su capacidad para unirse a una secuencia designada mediante enlace de hidrógeno y otras interacciones químicas. Dichas moléculas se conocen en la técnica e incluyen, por ejemplo, aquellas en las que los enlaces fosfato se sustituyen con enlaces peptídicos en el armazón de la molécula. Una referencia a una secuencia de ácido nucleico abarca su complemento, a menos que se especifique lo contrario. Por lo tanto, debe entenderse que una referencia a una molécula de ácido nucleico que tiene una secuencia concreta abarca su hebra complementaria, con su secuencia complementaria. La hebra complementaria también es útil, *por ejemplo*, para la terapia antisentido, sondas de hibridación y cebadores para la PCR.

La expresión "unido operablemente" se refiere a dos o más elementos de secuencia de ácido nucleico que normalmente están unidos físicamente y se encuentran en una relación funcional entre sí. Por ejemplo, un promotor está unido operablemente a una secuencia codificante, si el promotor es capaz de iniciar o regular la transcripción o la expresión de una secuencia codificante, en cuyo caso la secuencia codificante debe entenderse como "bajo el control" del promotor.

Por "excipiente farmacéuticamente aceptable" se entiende cualquier sustancia inerte que se combine con una molécula activa, tal como un fármaco, agente, o molécula de unión para preparar una forma de dosificación aceptable o conveniente. El "excipiente farmacéuticamente aceptable" es un excipiente que no es tóxico para los receptores a las dosis y concentraciones usadas, y que es compatible con otros ingredientes de la formulación que comprende el fármaco, el agente o la molécula de unión. Los excipientes farmacéuticamente aceptables se aplican y conocen ampliamente en la técnica.

La expresión "se une específicamente", tal como se usa en el presente documento, en referencia a la interacción de una molécula de unión, por ejemplo, un anticuerpo, y su compañero de unión, por ejemplo, un antígeno, significa que la interacción es dependiente de la presencia de una estructura concreta, por ejemplo, un determinante antigénico o epítipo, en el compañero de unión. En otras palabras, el anticuerpo se une o reconoce preferencialmente al compañero de unión, incluso cuando el compañero de unión está presente en una mezcla de otras moléculas u organismos. La unión puede estar mediada por interacciones covalentes o no covalentes o por una combinación de ambas. En otras palabras, la expresión "se une específicamente" significa una unión inmuno-específica a un determinante antigénico o epítipo y ausencia de unión inmuno-específica a otros determinantes antigénicos o epítopos. Una molécula de unión que se une inmuno-específicamente a un antígeno puede unirse a otros péptidos o polipéptidos con una menor afinidad según se determina mediante, por ejemplo, radioinmunoensayos (RIA), ensayos inmunoabsorbentes acoplados a enzimas (ELISA), BIACORE, u otros ensayos conocidos en la técnica. Las moléculas de unión o los fragmentos de las mismas que se unen inmuno-específicamente a un antígeno pueden tener reactividad cruzada con antígenos relacionados, que portan el mismo epítipo. Preferentemente, las moléculas de unión o los fragmentos de las mismas que se unen inmuno-específicamente a un antígeno no tienen reactividad cruzada con otros antígenos.

Una "sustitución", tal como se usa en el presente documento, indica el reemplazo de uno o más aminoácidos o nucleótidos con otros aminoácidos o nucleótidos diferentes, respectivamente.

La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz" se refiere a una cantidad de la molécula de unión tal como se define en el presente documento que es eficaz para prevenir, mejorar y/o tratar una afección resultante de la infección con un virus de la gripe B. Mejora, tal como se usa en el presente documento, puede referirse a la reducción de los síntomas de la enfermedad visibles o perceptibles, de la viremia, o cualquier otra manifestación medible de la infección por gripe.

El término "tratamiento" se refiere al tratamiento terapéutico, así como a las medidas profilácticas o preventivas para curar o detener o al menos retrasar el progreso de la enfermedad. Aquellos que necesitan tratamiento incluyen aquellos que ya padezcan una afección resultante de la infección por el virus de la gripe, así como aquellos en los que se va a prevenir la infección por el virus de la gripe. Los sujetos que se hayan recuperado parcial o totalmente de la infección por el virus de la gripe también pueden necesitar tratamiento. La prevención abarca inhibir o reducir la diseminación del virus de la gripe o inhibir o reducir la aparición, el desarrollo o la progresión de uno o más de los síntomas asociados con la infección por el virus de la gripe.

El término "vector" indica una molécula de ácido nucleico en la que puede insertarse una segunda secuencia de ácido nucleico para su introducción en un hospedador donde se replicará, y en algunos casos expresará. En otras palabras, un vector es capaz de transportar una molécula de ácido nucleico a la que se ha unido. Los vectores de clonación, así como los de expresión están contemplados por el término "vector", tal como se usa en el presente documento. Los vectores incluyen, pero sin limitación, plásmidos, cósmidos, cromosomas bacterianos artificiales (BAC) y cromosomas artificiales de levadura (YAC) y vectores derivados de bacteriófagos o de virus de plantas o animales (incluyendo seres humanos). Los vectores comprenden un origen de replicación reconocido por el hospedador propuesto y en el caso de los vectores de expresión, un promotor y otras regiones reguladoras reconocidas por el hospedador. Un vector que contiene una segunda molécula de ácido nucleico se introduce en una célula mediante transformación, transfección, o mediante el uso de los mecanismos de entrada vírica. Determinados vectores son capaces de replicarse de manera autónoma en un hospedador en el que se introducen (por ejemplo, los vectores que tienen un origen de replicación bacteriano pueden replicarse en bacterias). Pueden integrarse otros vectores en el genoma de un hospedador tras su introducción en el hospedador, y de este modo se replican junto con el genoma del hospedador.

Descripción detallada

En un primer aspecto, la presente invención abarca moléculas de unión capaces de unirse específicamente a hemaglutinina (HA) de subtipos de virus de la gripe A del grupo filogenético 1 y subtipos del virus de la gripe A del grupo filogenético 2, tal como se define en las reivindicaciones. En una realización, las moléculas de unión son capaces de neutralizar los subtipos de virus de la gripe A tanto del grupo filogenético 1 como del grupo filogenético 2. Por lo tanto, las moléculas de unión de la invención son únicas en tanto que son capaces de neutralizar de manera cruzada tanto a cepas de virus de la gripe A del grupo 1 como a cepas del virus de la gripe A del grupo 2. En una realización, las moléculas de unión son capaces de neutralizar a al menos uno o más, preferentemente a dos o más, preferentemente a tres o más, preferentemente a cuatro o más, aún más preferentemente a cinco o más subtipos de virus de la gripe A del grupo 1 seleccionados entre el grupo que consiste en los subtipos H1, H2, H5, H6,

H8, H9 y H11, y a al menos uno o más, preferentemente a dos o más, preferentemente a tres o más subtipos de virus de la gripe A del grupo 2 seleccionados entre el grupo que consiste en los subtipos H3, H4, H7, y H10. De acuerdo con la invención, las moléculas de unión son capaces de unirse específicamente a hemaglutinina (HA) de subtipos del virus de la gripe B. En otra realización, las moléculas de unión son capaces de neutralizar a virus de la gripe B. En una realización, las moléculas de unión son capaces de neutralizar *in vivo* a virus de la gripe A y/o B. Las cepas de virus de la gripe A y B pueden ser cepas de virus de la gripe tanto humanas como no humanas (es decir, obtenidas de animales no humanos, por ejemplo, aves).

Preferentemente, las moléculas de unión son moléculas de unión humanas. En una realización preferida, las moléculas de unión son anticuerpos humanos, o fragmentos de unión a antígeno de los mismos.

En una realización, las moléculas de unión proceden del gen de línea germinal VH1-69. Por lo tanto, todas las moléculas de unión usan el mismo armazón codificado por la línea germinal VH1-69.

En una realización, la interacción de unión de las moléculas de unión, preferentemente el anticuerpo, y HA está mediada exclusivamente por secuencias variables de cadena pesada.

En una realización, las moléculas de unión comprenden una CDR1 de cadena pesada que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 133 o SEQ ID NO: 139, una CDR2 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134, SEQ ID NO: 140 o SEQ ID NO: 151, y una CDR3 de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 135, SEQ ID NO: 141, SEQ ID NO: 145, SEQ ID NO: 152, SEQ ID NO: 161, y SEQ ID NO: 162. Las regiones CDR de las moléculas de unión de la invención se muestran en la tabla 7. Las regiones CDR son de acuerdo con Kabat et al., (1991) tal como se describe en Sequences of Proteins of Immunological Interest.

Los virus de la gripe infectan a las células uniéndose a restos de ácido siálico sobre la superficie de las células diana, y la posterior transferencia a endosomas, mediante la fusión de sus membranas con las membranas endosómicas y la liberación del complejo genoma-transcriptasa al interior de la célula. Los procesos tanto de unión al receptor como de fusión de la membrana están mediados por la glucoproteína HA. La HA del virus de la gripe A comprende dos regiones estructuralmente distintas, es decir, una región de cabeza globular, que contiene un sitio de unión a receptor que es responsable del acoplamiento del virus a la célula diana, y que está implicada en la actividad de hemaglutinación de la HA, y una región de tallo, que contiene un péptido de fusión que es necesario para la fusión de membrana entre la envuelta vírica y la membrana endosómica de la célula. La proteína HA es un trímero en el que cada monómero consiste en dos glucopéptidos enlazados por disulfuro, HA1 y HA2, que se producen durante la infección mediante la escisión proteolítica de un precursor (HA0). La escisión es necesaria para la infectividad del virus, ya que es necesaria para cebar la HA para la fusión de membrana, para permitir un cambio conformacional. La activación de la molécula cebada se produce a pH bajo en los endosomas, entre pH 5 y pH 6, y requiere de cambios importantes en la estructura de la HA. Cada una de las etapas en el cebado y la activación de la HA para que participe en el proceso de fusión de membrana, presenta una diana diferente para la inhibición, por ejemplo, mediante anticuerpos monoclonales. En una realización, las moléculas de unión son capaces de bloquear los cambios conformacionales inducidos por pH en la HA asociados con la fusión de membrana.

Las moléculas de unión de la invención pueden ser capaces de unirse específicamente a la subunidad HA0, HA1 y/o HA2 de la proteína HA. Pueden ser capaces de unirse específicamente a epítopos lineales o estructurales y/o conformacionales en la subunidad HA0, HA1 y/o HA2 de la proteína HA. La molécula de HA puede purificarse de los virus o producirse de manera recombinante y opcionalmente aislarse antes de su uso. Como alternativa, la HA puede expresarse en la superficie de células. En una realización, las moléculas de unión de la invención son capaces de unirse específicamente a un epítipo en la región de tallo de la HA. En una realización, las moléculas de unión se unen a un epítipo que es accesible en la conformación previa a la fusión de HA.

Las moléculas de unión de la invención pueden ser capaces de unirse específicamente a virus de la gripe que son viables, activos y/o infecciosos o que se encuentran en forma inactivada/atenuada. Los métodos para inactivar/atenuar virus, por ejemplo, virus de la gripe, son de sobra conocidos en la técnica e incluyen, pero sin limitación, tratamiento con formalina, β -propiolactona (BPL), mertiolato, y/o luz ultravioleta.

Las moléculas de unión de la invención también pueden ser capaces de unirse específicamente a uno o más fragmentos de los virus de la gripe, tales como, entre otros, a una preparación de una o más proteínas y/o (poli)péptidos, procedentes de subtipos de virus de la gripe A y/o B o a una o más proteínas y/o polipéptidos de los virus de la gripe A y/o B producidos de manera recombinante. Puede encontrarse la secuencia de nucleótidos y/o aminoácidos de proteínas de diversas cepas de gripe A y B en la base de datos GenBank, la Base de Datos de Secuencias del Virus de la Gripe del NCBI, la Base de Datos de Secuencias de la Gripe (ISD), la base de datos del EMBL y/u otras bases de datos. Se encuentra dentro de las capacidades del experto la obtención de dichas secuencias en las respectivas bases de datos.

En otra realización, las moléculas de unión de la invención son capaces de unirse específicamente a un fragmento de las proteínas y/o polipéptidos anteriormente mencionados, en donde el fragmento comprende al menos un

epítipo reconocido por las moléculas de unión de la invención. Un "epítipo", tal como se usa en el presente documento, es un resto que es capaz de unirse a una molécula de unión de la invención con una afinidad lo suficientemente elevada como para formar un complejo antígeno-molécula de unión detectable.

- 5 Las moléculas de unión de la invención pueden ser capaces o no de unirse específicamente a la parte extracelular de la HA (también denominada en el presente documento HA soluble (SHA)).

10 Las moléculas de unión de la invención pueden ser moléculas de inmunoglobulina intactas, tales como anticuerpos policlonales o monoclonales, o las moléculas de unión pueden ser fragmentos de unión a antígeno de las mismas, incluyendo, pero sin limitación, regiones variables de cadena pesada y ligera, fragmentos Fab, F(ab'), F(ab')₂, Fv, dAb, Fd, de regiones determinantes de la complementariedad (CDR), anticuerpos monocatenarios (scFv), anticuerpos bivalentes monocatenarios, anticuerpos de fago monocatenarios, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, y (poli)péptidos que contienen al menos un fragmento de una inmunoglobulina que sea suficiente para conferir unión a antígeno específica para las cepas del virus de la gripe o un fragmento de las mismas. En una realización preferida, las moléculas de unión de la invención son anticuerpos monoclonales humanos, y/o fragmentos de unión a antígeno de los mismos. Las moléculas de unión también pueden ser nanocuerpos, alfacuerpos, affibodies, armazones de dominio FN3 y otros armazones basados en dominios en proteínas de repetición (humanas), tales como adnectinas, anticalinas, darpinas, etc., u otros armazones que comprenden secuencias de unión a epítipos.

20 Las moléculas de unión de la invención pueden usarse en forma aislada o no aislada. Además, las moléculas de unión de la invención pueden usarse solas o en una mezcla que comprende la menos una molécula de unión (o una variante o fragmento de la misma) de la invención, y/o con otras moléculas de unión que se unen a la gripe y que tienen un efecto inhibitorio para el virus de la gripe. En otras palabras, las moléculas de unión pueden usarse en combinación, *por ejemplo*, en forma de una composición farmacéutica que comprende dos o más moléculas de unión de la invención, variantes o fragmentos de las mismas. Por ejemplo, pueden combinarse moléculas de unión que tengan actividades diferentes pero complementarias en un solo tratamiento para lograr un efecto profiláctico, terapéutico o diagnóstico deseado, pero como alternativa, también pueden combinarse moléculas de unión que tengan actividades idénticas en un solo tratamiento para lograr un efecto profiláctico, terapéutico o diagnóstico deseado. Opcionalmente, la mezcla comprende además al menos un agente terapéutico diferente. Preferentemente, el agente terapéutico, tal como, *por ejemplo*, inhibidores de M2 (por ejemplo, amantidina, rimantadina) y/o inhibidores de la neuraminidasa (por ejemplo, zanamavir, oseltamivir) es útil en la profilaxis o y/o tratamiento de una infección por el virus de la gripe.

35 Típicamente, las moléculas de unión de acuerdo con la invención pueden unirse a sus compañeros de unión, es decir, un virus de la gripe A del grupo 1 (tal como H1N1) y un virus de la gripe A del grupo 2 (tal como H3N2), y/o a un virus de la gripe B, y/o a fragmentos de los mismos, con una constante de afinidad (valor de K_d) que es menor de $0,2 \times 10^{-4}$ M, $1,0 \times 10^{-5}$ M, $1,0 \times 10^{-6}$ M, $1,0 \times 10^{-7}$ M, preferentemente menor de $1,0 \times 10^{-8}$ M, más preferentemente menor de $1,0 \times 10^{-9}$ M, más preferentemente menor de $1,0 \times 10^{-10}$ M, aún más preferentemente menor de $1,0 \times 10^{-11}$ M, y en particular, menor de $1,0 \times 10^{-12}$ M. Las constantes de afinidad pueden variar para los isotipos de los anticuerpos. Por ejemplo, la afinidad de unión para un isotipo IgM se refiere a una afinidad de unión de al menos aproximadamente $1,0 \times 10^{-7}$ M. Las constantes de afinidad pueden medirse, por ejemplo, usando resonancia de plasmón superficial, por ejemplo, usando el sistema BIACORE (Pharmacia Biosensor AB, Uppsala, Suecia).

45 Las moléculas de unión de la invención muestran actividad neutralizante. La actividad neutralizante puede medirse, por ejemplo, tal como se describe en el presente documento. Se describen ensayos alternativos que miden la actividad neutralizante, por ejemplo, en WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2005, versión 2002.5.

50 Típicamente, las moléculas de unión de acuerdo con la invención tienen una actividad neutralizante de 50 µg/ml o menos, preferentemente de 20 µg/ml o menos, más preferentemente, una actividad neutralizante de 10 µg/ml o menos, aún más preferentemente de 5 µg/ml o menos, determinada en un ensayo de neutralización de virus (VNA) *in vitro*, tal como se describe en el ejemplo 6. Las moléculas de unión de acuerdo con la invención pueden unirse al virus de la gripe o a un fragmento del mismo en forma soluble, tal como, por ejemplo, en una muestra o en suspensión o puede unirse a virus de la gripe o a fragmentos del mismo o unirse a un vehículo o sustrato, por ejemplo, placas de microtitulación, membranas y perlas, etc. Los vehículos o sustratos pueden estar hechos de vidrio, plástico (por ejemplo, poliestireno), polisacáridos, nailon, nitrocelulosa, o teflón, etc. La superficie de dichos soportes puede ser sólida o porosa y tener cualquier forma conveniente. Además, las moléculas de unión pueden unirse al virus de la gripe en forma purificada/aislada o no purificada/no aislada.

60 Tal como se ha descrito anteriormente, la presente invención se refiere a moléculas de unión humanas aisladas que son capaces de reconocer y de unirse a un epítipo en la proteína hemaglutinina (HA) de la gripe, en donde dichas moléculas de unión tienen actividad neutralizante contra virus de la gripe A del grupo filogenético 1 y virus de la gripe A del grupo filogenético 2. De acuerdo con la invención, se ha demostrado, por lo tanto, que las moléculas de unión de la presente invención neutralizan de manera cruzada los subtipos de virus de la gripe que pertenecen a ambos grupos filogenéticos. El experto en la materia, basándose en los que se ha divulgado en el presente documento, puede determinar si un anticuerpo, de hecho, reacciona de manera cruzada con proteínas de HA de diferentes

subtipos y también puede determinar si son capaces de neutralizar a los virus de la gripe de diferentes subtipos *in vitro* y/o *in vivo*.

En una realización, la molécula de unión de acuerdo con la presente invención se selecciona entre el grupo que consiste:

- a) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 133, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 135,
- b) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 140, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 141,
- c) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 145,
- d) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 151, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 152,
- e) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 152,
- f) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 151, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 161,
- g) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 151, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 162, y
- h) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 141.

En una realización preferida, la molécula de unión comprende una región CDR1 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 145 o SEQ ID NO: 152.

En otra realización, las moléculas de unión humanas de acuerdo con la invención se seleccionan entre el grupo que consiste en:

- a) una molécula de unión que tiene una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 133, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 135, una región CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 136, una región CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 137, y una región CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 138,
- b) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 140, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 141, una región CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142, una región CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, y una región CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144,
- c) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 145, una región CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146, una región CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 174, y una región CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147,
- d) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 145, una región CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148, una región CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149, y una región CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150,
- e) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 151, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 152, una región CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 153, una región CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 154, y una región CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 155,
- f) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 152, una región CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 148, una región CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 149, y una región CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 150,
- g) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 152, una región CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 156, una región CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 157, y una región CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 158,

[illegible]

En otra realización, las moléculas de unión humanas de acuerdo con la invención se seleccionan entre el grupo que consiste en:

a) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 145, una región CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 146, una región CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 174, y una región CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 147,

b) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 152, una región CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 171, una región CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 164, y una región CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 172,

c) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 145, una región CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142, una región CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, y una región CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 173, y

d) una molécula de unión que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 152, una región CDR1 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 142, una región CDR2 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 143, y una región CDR3 de cadena ligera que tiene la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 144.

En otra realización, la molécula de unión de acuerdo con la invención se selecciona entre el grupo que consiste en

- a) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 2,
- b) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 6,
- c) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 10,
- d) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 14,
- e) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 18,
- f) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 22,
- g) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 26,
- h) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 30,
- i) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 34,
- j) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 38,
- k) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 42,
- l) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 46,
- m) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 50,
- n) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 54,
- o) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 58, y
- p) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 62.

En una realización, la molécula de unión de acuerdo con la invención se selecciona entre el grupo que consiste en una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 10, una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 54, una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 58, y una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 62.

En una realización adicional, las moléculas de unión de acuerdo con la invención comprenden una región variable de cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácidos seleccionada entre el grupo que consiste en SEQ ID NO: 4, SEQ ID NO: 8, SEQ ID NO: 12, SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 20, SEQ ID NO: 24, SEQ ID NO: 28, SEQ ID NO: 32, SEQ ID NO: 36, SEQ ID NO: 40, SEQ ID NO: 44, SEQ ID NO: 48, SEQ ID NO: 52, SEQ ID NO: 56, SEQ ID NO: 60, y SEQ ID NO: 64.

En otra realización más, la molécula de unión se selecciona entre el grupo que consiste en

- a) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 2 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 4,
- b) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 6 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 8,
- c) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 10 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 12,
- d) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 14 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 16,
- e) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 18 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 20,
- f) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 22 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 24,
- g) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 26 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 28,
- h) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 30 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 32,
- i) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 34 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 36,
- j) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 38 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 40,
- k) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 42 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 44,
- l) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 46 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 48,
- m) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 50 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 52,
- n) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 54 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 56,
- o) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 58 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 60, y
- p) una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 62 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 64.

En una realización, las moléculas de unión humanas de acuerdo con la invención se seleccionan entre el grupo que consiste en: una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 10 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 12, una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 54 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 56, una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 58 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 60, y una molécula de unión que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO: 62 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 64.

En una realización preferida, las moléculas de unión de acuerdo con la invención son para su uso como medicamento, y preferentemente para su uso en el tratamiento diagnóstico, terapéutico y/o profiláctico de la infección por gripe causada por virus de la gripe A y/o B. Preferentemente, el virus de la gripe que causa la infección por gripe y que puede tratarse usando las moléculas de unión de la presente invención es un virus de la gripe A del grupo filogenético 1 y/o 2, y/o un virus de la gripe B. La presente invención se refiere también a una composición farmacéutica que comprende al menos una molécula de unión de acuerdo con la invención, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

En otra realización más, la invención se refiere al uso de una molécula de unión de acuerdo con la invención en la preparación de un medicamento para el diagnóstico, profilaxis, y/o tratamiento de una infección por el virus de la gripe. Dichas infecciones pueden producirse en pequeñas poblaciones, pero también pueden diseminarse por todo el mundo en epidemias estacionales o, aún peor, en pandemias globales donde millones de individuos se encuentran en riesgo. La invención proporciona moléculas de unión que pueden neutralizar la infección por cepas de gripe que causan dichas epidemias estacionales, así como potenciales pandemias. De manera importante, ahora puede preverse la protección y el tratamiento con las moléculas de unión de la presente invención en relación a varios subtipos de la gripe ya que se ha divulgado que las moléculas de unión de la presente invención son capaces de neutralizar de manera cruzada diversos subtipos tanto del grupo filogenético 1, que abarca los subtipos H1, H2, H5, H6, H8, H9 y H11 como del grupo filogenético 2, que abarca los subtipos H3, H4, H7 y H10, así como subtipos de la gripe B.

Otro aspecto de la presente invención incluye variantes funcionales de las moléculas de unión tal como se han definido en el presente documento. Se considera que las moléculas son variantes funcionales de una molécula de unión de acuerdo con la invención, en caso de que las variantes sean capaces de competir por la unión específica a un virus de la gripe o un fragmento del mismo con las moléculas de unión "parentales" o "de referencia". En otras palabras, se considera que las moléculas son variantes funcionales de una molécula de unión de acuerdo con la invención cuando las variantes funcionales siguen siendo capaces de unirse al mismo epítipo solapante del virus de la gripe o un fragmento del mismo. En lo respecta a la presente solicitud "parental" y "de referencia" se usarán como sinónimos, lo que significa que la información de la molécula de referencia o parental, o la molécula física en sí, puede formar la base para la variación. Las variantes funcionales incluyen, pero sin limitación, derivados que son sustancialmente similares en su secuencia estructural principal, incluyendo aquellos que tienen modificaciones en el receptor Fc u otras regiones implicadas con las funciones efectoras, y/o que contienen, por ejemplo, modificaciones *in vitro* o *in vivo*, químicas y/o bioquímicas, que no se encuentran en la molécula de unión parental. Dichas modificaciones incluyen, entre otras, la acetilación, acilación, unión covalente de un nucleótido o derivado de nucleótido, unión covalente de un lípido o un derivado lipídico, reticulación, formación de enlaces disulfuro, glucosilación, hidroxilación, metilación, oxidación, pegilación, procesamiento proteolítico, fosforilación, y similares. Como alternativa, las variantes funcionales pueden ser moléculas de unión tal como se definen en la presente invención que comprenden una secuencia de aminoácidos que contiene sustituciones, inserciones, eliminaciones o combinaciones de las mismas de uno o más aminoácidos en comparación con las secuencias de aminoácidos de las moléculas de unión parentales. Además, las variantes funcionales pueden comprender truncamientos de la secuencia de aminoácidos en uno o en ambos de los extremos amino o carboxilo. Las variantes funcionales de acuerdo con la invención pueden tener afinidades de unión iguales o diferentes, ya sean mayores o menores, en comparación con la molécula de unión parental pero que son capaces aún de unirse al virus de la gripe o a un fragmento del mismo. Por ejemplo, las variantes funcionales de acuerdo con la invención pueden tener afinidades de unión aumentadas o reducidas pro un virus de la gripe o un fragmento del mismo en comparación con las moléculas de unión parentales. Preferentemente, las secuencias de aminoácidos de las regiones variables, incluyendo, pero sin limitación, regiones marco conservadas, regiones hipervariables, en particular regiones CDR3, se encuentran modificadas. En general, las regiones variables de cadena ligera y de cadena pesada comprenden tres regiones hipervariables, que comprenden tres CDR, y regiones más conservadas, las denominadas regiones marco conservadas (FR). Las regiones hipervariables comprenden restos de aminoácidos de las CDR y restos de aminoácidos de los bucles hipervariables. Las variantes funcionales que se pretende que se encuentren dentro del alcance de la presente invención tienen de al menos aproximadamente un 50 % a al menos aproximadamente un 99 %, preferentemente de al menos aproximadamente un 60 % a aproximadamente un 99 %, más preferentemente de al menos aproximadamente un 70 % a aproximadamente un 99 %, aún más preferentemente de al menos aproximadamente un 80 % a aproximadamente un 99 %, lo más preferentemente de al menos aproximadamente un 90 % a aproximadamente un 99 %, en particular, de al menos aproximadamente un 95 % a aproximadamente un 99 %, y en particular de al menos un 97 % a al menos un 99 % de identidad y/u homología de secuencia de aminoácidos con las moléculas de unión parentales tal como se definen en el presente documento. Pueden usarse algoritmos informáticos, tales como, entre otros, Gap o Bestfit, conocidos para los expertos en la materia, para

alinear de manera óptima secuencias de aminoácidos para compararlas y para definir restos de aminoácidos similares o idénticos. Pueden obtenerse variantes funcionales alterando las moléculas de unión parentales o partes de las mismas mediante métodos de biología molecular conocidos en la técnica incluyendo, pero sin limitación, PCR propensa a errores, mutagénesis dirigida por oligonucleótidos, mutagénesis de sitio dirigido y/o reordenamientos de cadena pesada y/o ligera. En una realización, las variantes funcionales de la invención tienen actividad neutralizante contra virus de la gripe A del grupo 1 y del grupo 2, y/o virus de la gripe B. La actividad neutralizante puede ser idéntica, o mayor o menor en comparación con las moléculas de unión parentales. En lo sucesivo, cuando se emplee el término molécula de unión (humana), este también abarca variantes funcionales de la molécula de unión (humana). Se conocen en la técnica ensayos para verificar si una molécula de unión variante tiene actividad neutralizante (véase WHO Manual on Animal Influenza Diagnosis and Surveillance, Ginebra: Organización Mundial de la Salud, 2005 versión 2002.5).

En otro aspecto más, la invención incluye inmunoconjugados, es decir, moléculas que comprenden al menos una molécula de unión tal como se define en el presente documento y que además comprenden al menos un marcador, tal como, entre otros, un resto/agente detectable. También se contemplan en la presente invención mezclas de inmunoconjugados de acuerdo con la invención o mezclas de al menos un inmunoconjugado de acuerdo con la invención y otra molécula, tal como un agente terapéutico u otra molécula de unión o inmunoconjugado. En una realización adicional, los inmunoconjugados de la invención pueden comprender más de un marcador. Estos marcadores pueden ser iguales o distintos entre sí y pueden unirse/conjugarse de manera no covalente a las moléculas de unión. Los marcadores también pueden unirse/conjugarse conjuntamente a las moléculas de unión humanas mediante unión covalente. Como alternativa, los marcadores pueden unirse/conjugarse a las moléculas de unión mediante uno o más compuestos enlazadores. Las técnicas para conjugar marcadores a moléculas de unión son de sobra conocidas para el experto en la materia.

Los marcadores de los inmunoconjugados de la presente invención pueden ser agentes terapéuticos, pero también pueden ser restos/agentes detectables. Los marcadores adecuados en el tratamiento y/o prevención pueden ser toxinas o partes funcionales de las mismas, antibióticos, enzimas, otras moléculas de unión que potencian la fagocitosis o la estimulación inmunitaria. Los inmunoconjugados que comprenden un agente detectable pueden usarse de manera diagnóstica para, por ejemplo, evaluar si un sujeto se ha infectado con un virus de la gripe o para controlar el desarrollo o la progresión de una infección por el virus de la gripe como parte de un procedimiento de ensayo clínico para, *por ejemplo*, determinar la eficacia de un régimen de tratamiento dado. Sin embargo, también pueden usarse con otros fines de detección y/o analíticos y/o diagnósticos. Los restos/agentes detectables incluyen, pero sin limitación, enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes, materiales radioactivos, metales emisores de positrones, e iones metálicos paramagnéticos no radiactivos. Los marcadores usados para marcar las moléculas de unión con fines de detección y/o analíticos y/o diagnósticos dependen de las técnicas y/o métodos de detección/análisis/diagnóstico específicos empleados, tales como, entre otros, tinción inmunohistoquímica de muestras (de tejido), detección por citometría de flujo, detección citométrica de barrido láser, inmunoensayos de fluorescencia, ensayos inmunoabsorbentes acoplados a enzimas (ELISA), radioinmunoensayos (RIA), bioensayos (por ejemplo, ensayos de fagocitosis), aplicaciones de transferencia de Western, etc. Los marcadores adecuados para las técnicas y/o métodos de detección/análisis/diagnóstico conocidos en la técnica se encuentran dentro del alcance del experto en la materia.

Además, las moléculas de unión humanas o los inmunoconjugados de la invención también pueden unirse a soportes sólidos, que son particularmente útiles para inmunoensayos *in vitro* o para la purificación de virus de la gripe o fragmentos de los mismos. Dichos soportes sólidos pueden ser porosos o no porosos, planares o no planares. Las moléculas de unión de la presente invención pueden fusionarse a secuencias marcadoras, tales como un péptido para facilitar la purificación. Los ejemplos incluyen, pero sin limitación, el marcador de hexa-histidina, el marcador de hemaglutinina (HA), el marcador myc o el marcador flag. Como alternativa, puede conjugarse un anticuerpo a un segundo anticuerpo para formar un heteroconjugado de anticuerpo. En otro aspecto, las moléculas de unión de la invención pueden conjugarse/acoplarse a uno o más antígenos. Preferentemente, estos antígenos son antígenos reconocidos por el sistema inmunitario de un sujeto al que se administra el conjugado de molécula de unión-antígeno. Los antígenos pueden ser idénticos, pero también pueden diferir entre sí. Son de sobra conocidos los métodos de conjugación para acoplar antígenos y moléculas de unión e incluyen, pero sin limitación, el uso de agentes reticulantes. Las moléculas de unión de la invención se unirán a la HA del virus de la gripe y los antígenos unidos a las moléculas de unión iniciarán un potente ataque de células T sobre el conjugado, que en última instancia dará lugar a la destrucción del virus de la gripe.

Después de producir inmunoconjugados químicamente mediante conjugación, directa o indirectamente, mediante, por ejemplo, un enlazador, pueden producirse los inmunoconjugados en forma de proteínas de fusión que comprenden las moléculas de unión de la invención y un marcador adecuado. Las proteínas de fusión pueden producirse mediante métodos conocidos en la técnica, tales como, por ejemplo, de manera recombinante construyendo moléculas de ácido nucleico que comprenden secuencias de nucleótidos que codifican las moléculas de unión en fase con secuencias de nucleótidos que codifican el marcador o los marcadores adecuados y después expresando las moléculas de ácido nucleico.

Otro aspecto de la presente invención es proporcionar una molécula de ácido nucleico que codifica al menos una

molécula de unión, una variante funcional o un inmunoconjugado de acuerdo con la invención. Dichas moléculas de ácido nucleico pueden usarse como intermedios con fines de clonación, por ejemplo, en el proceso de maduración por afinidad, tal como se ha descrito anteriormente. En una realización preferida, las moléculas de ácido nucleico están aisladas o purificadas.

El experto en la materia apreciará que también se pretende que las variantes funcionales de estas moléculas de ácido nucleico formen parte de la presente invención. Las variantes funcionales son secuencias de ácido nucleico que pueden traducirse directamente, usando el código genético convencional, para proporcionar una secuencia de aminoácidos idéntica a aquella traducida a partir de las moléculas de ácido nucleico parentales.

Preferentemente, las moléculas de ácido nucleico codifican moléculas de unión que comprenden las regiones CDR tal como se han descrito anteriormente. En una realización adicional, las moléculas de ácido nucleico codifican moléculas de unión que comprenden dos, tres, cuatro, cinco o incluso las seis regiones CDR de las moléculas de unión de la invención.

En otra realización, las moléculas de ácido nucleico codifican moléculas de unión que comprenden una cadena pesada que comprende las secuencias de región variable de cadena pesada descritas anteriormente. En otra realización, las moléculas de ácido nucleico codifican moléculas de unión que comprenden una cadena ligera que comprende las secuencias de región variable de cadena ligera descritas anteriormente. Las secuencias de nucleótidos y las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de cadena pesada y ligera de las moléculas de unión de la invención se proporcionan más adelante.

Otro aspecto de la invención es proporcionar vectores, es decir, construcciones de ácido nucleico, que comprenden una o más moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la presente invención. Los vectores pueden derivarse de plásmidos, tales como, entre otros, F, R1, RP1, Col, pBR322, TOL, Ti, etc; cósmidos; fagos, tales como lambda, lambdoides, M13, Mu, P1, P22, Q β , T-par, T-impar, T2, T4, T7, etc; virus de plantas. Los vectores pueden usarse para la clonación y/o la expresión de las moléculas de unión de la invención y pueden incluso usarse con fines de terapia génica. Los vectores que comprenden una o más moléculas de ácido nucleico de acuerdo con la invención unidas operablemente a una o más moléculas de ácido nucleico reguladoras de la expresión también están abarcados por la presente invención. La elección del vector depende de los procedimientos recombinantes seguidos y del hospedador empleado. La introducción de vectores en células hospedadoras puede efectuarse mediante, entre otros, transfección con fosfato de calcio, infección vírica, transfección mediada por DEAE-dextrano, transfección con lipofectamina o electroporación. Los vectores pueden tener replicación autónoma o pueden replicarse junto con el cromosoma en el que se han integrado. Preferentemente, los vectores contienen uno o más marcadores de selección. La elección de los marcadores puede depender de las células hospedadoras seleccionadas, aunque esto no es crítico para la invención, como bien saben los expertos en la materia. Estos incluyen, pero sin limitación, kanamicina, neomicina, puromicina, higromicina, zeocina, el gen de timidina cinasa del virus Herpes simplex (HST-TK), y el gen de dihidrofolato reductasa (dhfr) de ratón. También están abarcados por la invención los vectores que comprenden una o más moléculas de ácido nucleico que codifican las moléculas de unión humanas tal como se han descrito anteriormente unidas operablemente a una o más moléculas de ácido nucleico que codifican proteínas o péptidos que pueden usarse para aislar las moléculas de unión humanas. Estas proteínas o péptidos incluyen, pero sin limitación, glutatión-S-transferasa, proteína de unión a maltosa, polihistidina de unión a metales, proteína fluorescente verde, luciferasa y beta-galactosidasa.

Los hospedadores que contienen una o más copias de los vectores mencionados anteriormente son un objeto adicional de la presente invención. Preferentemente, los hospedadores son células hospedadoras. Las células hospedadoras incluyen, pero sin limitación, células de origen de mamífero, vegetal, de insecto, fúngico o bacteriano. Las células bacterianas incluyen, pero sin limitación, células de bacterias Gram-positivas o de bacterias Gram-negativas, tales como varias especies de los géneros *Escherichia*, tales como *E. coli*, y *Pseudomonas*. Del grupo de las células fúngicas, se usan preferentemente células de levadura. La expresión en levaduras puede lograrse mediante el uso de cepas de levadura tales como, entre otras, *Pichia pastoris*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Hansenula polymorpha*. Además, pueden usarse como células hospedadoras células de insecto, tales como células de *Drosophila* y Sf9. Aparte de esto, las células hospedadoras pueden ser células vegetales, tales como, entre otras, células de plantas de cultivo, tales como plantas forestales, o células vegetales que proporcionan alimento y materias primas, tales como plantas de cereal, o plantas medicinales, o células de plantas ornamentales, o células de bulbos de flor. Las plantas o células vegetales transformadas (transgénicas) se producen mediante métodos conocidos, por ejemplo, transferencia génica mediada por *Agrobacterium*, transformación de discos foliares, transformación de protoplastos o mediante transferencia de ADN inducida por polietilenglicol, electroporación, sonicación, microinyección o transferencia génica biolística. Además, un sistema de expresión adecuado puede ser un sistema de baculovirus. Los sistemas de expresión que usan células de mamífero, tales como células de ovario de hámster chino (CHO), células COS, células BHK, células NSO o células de melanoma Bowes se prefieren en la presente invención. Las células de mamífero proporcionan proteínas expresadas con modificaciones postraduccionales que son lo más similares a las moléculas naturales de origen de mamífero. Ya que la presente invención trata acerca de moléculas que pueden tener que administrarse a seres humanos, podría ser particularmente preferible un sistema de expresión completamente humano. Por lo tanto, incluso más preferentemente, las células hospedadoras son células humanas. Los ejemplos de células humanas son, entre

otras, células HeLa, 911, AT 1080, A549, 293 y HEK293T. En realizaciones preferidas, las células productoras humanas comprenden al menos una parte funcional de una secuencia de ácido nucleico que codifica una región E1 de adenovirus en formato expresable. En realizaciones aún más preferidas, dichas células hospedadoras proceden de una retina humana y se immortalizan con ácidos nucleicos que comprenden secuencias E1 adenovíricas, tales como células 911 o la línea celular depositada en la Colección Europea de Cultivos Celulares (ECACC), CAMR, Salisbury, Wiltshire SP4 OJG, Gran Bretaña el 29 de febrero de 1996 con el número 96022940 y comercializadas con el nombre comercial PER.C6[®] (PER.C6 es una marca registrada de Crucell Holland B.V.). Para los fines de la presente solicitud "células PER.C6" se refiere a las células depositadas con el número 96022940 o sus ancestros, pases aguas arriba o aguas abajo, así como descendientes de ancestros de células depositadas, así como derivados de cualquiera de las anteriores. La producción de proteínas recombinantes en células hospedadoras puede llevarse a cabo de acuerdo con métodos de sobra conocidos en la técnica. El uso de las células comercializadas con el nombre comercial PER.C6[®] como plataforma de producción para proteínas de interés se ha descrito en el documento WO 00/63403, cuya divulgación se incorpora al presente documento por referencia en su totalidad.

En otra realización más, las moléculas de unión de la presente invención también pueden producirse en mamíferos transgénicos, no humanos, tales como, entre otros, conejos, cabras o vacas, y secretarse en, por ejemplo, la leche de los mismos.

En otra realización alternativa más, las moléculas de unión de acuerdo con la presente invención pueden generarse por mamíferos transgénicos no humanos, tales como, por ejemplo, ratones o conejos transgénicos que expresan genes de inmunoglobulina humana. Preferentemente, los mamíferos transgénicos no humanos tienen un genoma que comprende un transgén de cadena pesada humana y un transgén de cadena ligera humana que codifica la totalidad o parte de las moléculas de unión humana tal como se han definido anteriormente. Los mamíferos transgénicos no humanos pueden inmunizarse con una preparación purificada o enriquecida del virus de la gripe o un fragmento del mismo. Los protocolos para inmunizar mamíferos no humanos están bien establecidos en la técnica. Véase Using Antibodies: A Laboratory Manual, Editado por: E. Harlow, D. Lane (1998), Cold Spring Harbor Laboratory, Cold Spring Harbor, Nueva York y Current Protocols in Immunology, Editado por: J.E. Coligan, A.M. Kruisbeek, D.H. Margulies, E.M. Shevach, W. Strober (2001), John Wiley & Sons Inc., Nueva York, cuyas divulgaciones quedan incorporadas a la presente memoria por referencia. Los protocolos de inmunización con frecuencia incluyen múltiples inmunizaciones, con o sin adyuvantes, tales como adyuvante completo de Freund y adyuvante incompleto de Freund, pero también pueden incluir inmunizaciones con ADN desnudo. En otra realización, las moléculas de unión humanas se producen por células B, células plasmáticas y/o de memoria derivadas de los animales transgénicos. En otra realización más, las moléculas de unión humanas se producen por hibridomas, que se preparan mediante la fusión de células B obtenidas de los mamíferos transgénicos no humanos anteriormente descritos a células immortalizadas. Las células B, células plasmáticas e hibridomas obtenibles de los mamíferos no humanos transgénicos anteriormente descritos y las moléculas de unión humanas obtenidas de los mamíferos transgénicos no humanos, células B, células plasmáticas y/o de memoria e hibridomas también forman parte de la presente invención.

En otro aspecto más, la invención proporciona composiciones que comprenden al menos una molécula de unión, preferentemente un anticuerpo monoclonal humano, de acuerdo con la invención, al menos una variante funcional del mismo, al menos un inmunoconjugado de acuerdo con la invención y/o una combinación de los mismos. Además de esto, las composiciones pueden comprender, entre otras cosas, moléculas estabilizantes, tales como albúmina o polietilenglicol, o sales. Preferentemente, las sales usadas son sales que mantienen la actividad biológica deseada de las moléculas de unión y que no confieren efectos tóxicos no deseados. En caso necesario, las moléculas de unión humanas de la invención pueden recubrirse sobre en o sobre un material para protegerlas de la acción de ácidos u otras condiciones naturales o no naturales que puedan inactivar las moléculas de unión.

En otro aspecto más, la invención proporciona composiciones que comprenden al menos una molécula de ácido nucleico como se define en la presente invención. Las composiciones pueden comprender soluciones acuosas, tales como soluciones acuosas que contienen sales (por ejemplo, NaCl o sales como se han descrito anteriormente), detergentes (por ejemplo, SDS) y/u otros componentes adecuados.

Además, la presente invención se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden al menos una molécula de unión, tal como un anticuerpo monoclonal humano de la invención (o un fragmento funcional o variante del mismo), al menos un inmunoconjugado de acuerdo con la invención, al menos una composición de acuerdo con la invención, o combinaciones de los mismos. La composición farmacéutica de la invención comprende además al menos un excipiente farmacéuticamente aceptable. Los excipientes farmacéuticamente aceptables son de sobra conocidos para el experto en la materia. La composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede comprender además al menos otro agente terapéutico diferente. Los agentes adecuados también son de sobra conocidos para el experto en la materia.

En una realización preferida, la composición farmacéutica de acuerdo con la invención comprende al menos una molécula de unión adicional, es decir, la composición farmacéutica puede ser un cóctel o mezcla de moléculas de unión. La composición farmacéutica puede comprender al menos dos moléculas de unión de acuerdo con la

invención, o al menos una molécula de unión de acuerdo con la invención y al menos una molécula de unión y/o neutralizante del virus de la gripe adicional, tal como otro anticuerpo dirigido contra la proteína HA o contra otras estructuras antigénicas presentes en los virus de la gripe, tales como M2. En otra realización, la molécula de unión adicional puede formularse para su administración simultánea, separada o secuencial.

En una realización, las composiciones farmacéuticas pueden comprender dos o más moléculas de unión que tengan actividad neutralizante contra los virus de la gripe A y/o los virus de la gripe B. En una realización, las moléculas de unión muestran una actividad neutralizante sinérgica, cuando se usan en combinación. Tal como se usa en el presente documento, el término "sinérgico" significa que el efecto combinado de las moléculas de unión cuando se usan en combinación es mayor que sus efectos aditivos cuando se usan individualmente. Las moléculas de unión de acción sinérgica pueden unirse a diferentes estructuras en los mismos fragmentos u otros distintos del virus de la gripe. Una forma de calcular la sinergia es mediante el índice de combinación. El concepto del índice de combinación (CI) ha sido descrito por Chou y Talalay (1984). Las composiciones pueden comprender, por ejemplo, una molécula de unión que tenga actividad neutralizante y una molécula de unión no neutralizante. Las moléculas de unión no neutralizantes y neutralizantes también pueden actuar de manera sinérgica para neutralizar al virus de la gripe.

En una realización, la composición farmacéutica puede comprender al menos una molécula de unión de acuerdo con la invención y al menos una molécula de unión neutralizante del virus de la gripe adicional. Las moléculas de unión en la composición farmacéutica son preferentemente capaces de reaccionar con virus de la gripe de diferentes subtipos. Las moléculas de unión deben ser de alta afinidad y deben tener una especificidad amplia. Preferentemente, ambas moléculas de unión son moléculas con neutralización cruzada en tanto que cada una neutraliza a virus de la gripe de diferentes subtipos. Además, preferentemente, neutralizan tantas cepas de cada uno de los subtipos de virus de la gripe como sea posible.

Una composición farmacéutica de acuerdo con la invención puede comprender además al menos un agente terapéutico, profiláctico y/o diagnóstico diferente. Preferentemente, la composición farmacéutica comprende al menos un agente profiláctico y/o terapéutico diferente. Preferentemente, dichos agentes terapéuticos y/o profilácticos adicionales son agentes capaces de prevenir y/o tratar una infección por el virus de la gripe y/o una afección resultante de dicha infección. Los agentes terapéuticos y/o profilácticos incluyen, pero sin limitación, agentes antivíricos. Dichos agentes pueden ser moléculas de unión, moléculas pequeñas, compuestos orgánicos o inorgánicos, enzimas, secuencias de polinucleótidos, péptidos antivíricos, etc. Otros agentes que se usan actualmente para tratar a pacientes infectados por los virus de la gripe son inhibidores de M2 (por ejemplo, amantidina, rimantadina) y/o inhibidores de la neuraminidasa (por ejemplo, zanamavir, oseltamivir). Estos pueden usarse en combinación con las moléculas de unión de la invención. "En combinación" en el presente documento significa simultáneamente, como formulaciones separadas, o como una sola formulación combinada, o de acuerdo con un régimen de administración secuencial como formulaciones separadas, en cualquier orden. También pueden usarse agentes capaces de prevenir y/o tratar una infección por el virus de la gripe y/o una afección resultante de dicha infección que se encuentran en fase experimental como otros agentes terapéuticos y/o profilácticos útiles en la presente invención.

Las moléculas de unión o las composiciones farmacéuticas de la invención pueden ensayarse en sistemas de modelo animal adecuados antes de su uso en seres humanos. Dichos sistemas de modelo animal incluyen, pero sin limitación, ratón, hurón y mono.

Típicamente, las composiciones farmacéuticas tienen que ser estériles y estables en condiciones de fabricación y almacenamiento. Las moléculas de unión, immunoconjugados, moléculas de ácido nucleico o composiciones de la presente invención pueden estar en forma de polvo para su reconstitución en el excipiente farmacéuticamente aceptable adecuado antes o en el momento de su suministro. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los métodos preferidos de preparación son las técnicas secado al vacío y criodesecación (liofilización) que producen un polvo del principio activo más cualquier otro ingrediente adicional deseado a partir de una solución previamente esterilizada por filtración del mismo.

Como alternativa, las moléculas de unión, immunoconjugados, moléculas de ácido nucleico o composiciones de la presente invención pueden estar en solución y el excipiente farmacéuticamente aceptable puede añadirse y/o mezclarse antes o en el momento de la administración para proporcionar una forma inyectable de dosis unitaria. Preferentemente, el excipiente farmacéuticamente aceptable usado en la presente invención es adecuado para una elevada concentración de fármaco, puede mantener una fluidez adecuada y, en caso necesario, puede retrasar la absorción.

La elección de la ruta de administración óptima de las composiciones farmacéuticas estará influenciada por varios factores, incluyendo las propiedades fisicoquímicas de las moléculas activas dentro de las composiciones, de la urgencia de la situación clínica y de la relación de las concentraciones plasmáticas de las moléculas activas para el efecto terapéutico deseado. Por ejemplo, en caso necesario, las moléculas de unión de la presente invención pueden prepararse con vehículos que las protegerán frente a la rápida liberación, tal como una formulación de liberación controlada, incluyendo implantes, parches transdérmicos, y sistemas de administración

microencapsulados. Entre otros, pueden usarse polímeros biodegradables biocompatibles, tales como vinilacetato de etileno, polianhídridos, ácido poliglicólico, colágeno, poliortoésteres, y ácido poliláctico. Además, puede ser necesario recubrir las moléculas de unión con, o coadministrar las moléculas de unión con, un material o compuesto que evite la inactivación de las moléculas de unión humanas. Por ejemplo, las moléculas de unión pueden administrarse a un sujeto en un vehículo adecuado, por ejemplo, liposomas o un diluyente.

Las rutas de administración pueden dividirse en dos categorías principales, administración oral y parenteral. La ruta de administración preferida es intravenosa o por inhalación.

Entre otras, las formas de dosificación orales pueden formularse en forma de comprimidos, trociscos, pastillas para chupar, suspensiones acuosas u oleosas, polvos o gránulos dispersables, emulsiones, cápsulas duras, cápsulas de gelatina blanda, jarabes o elixires, píldoras, grageas, líquidos, geles, o suspensiones. Estas formulaciones pueden contener excipientes farmacéuticos incluyendo, pero sin limitación, diluyentes inertes, agentes granulantes y disgregantes, agentes aglutinantes, agentes lubricantes, conservantes, agentes colorantes, aromatizantes o edulcorantes, aceites vegetales o minerales, agentes humectantes, y agentes espesantes.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención también pueden formularse para administración parenteral. Entre otras cosas, las formulaciones para administración parenteral pueden estar en forma de soluciones o suspensiones acuosas o no acuosas, isotónicas, estériles para inyección o infusión. Las soluciones o suspensiones pueden comprender agentes que no son tóxicos para los receptores a las dosificaciones y concentraciones empleadas, tales como 1,3-butanodiol, solución de Ringer, solución de Hank, solución isotónica de cloruro de sodio, aceites, ácidos grasos, agentes anestésicos locales, conservantes, tampones, agentes aumentadores de la viscosidad o la solubilidad, antioxidantes hidrosolubles, antioxidantes liposolubles y agentes quelantes de metales.

En un aspecto adicional, las moléculas de unión, tales como los anticuerpos monoclonales humanos (fragmentos funcionales y variantes de los mismos), inmunoconjugados, composiciones, o composiciones farmacéuticas de la invención pueden usarse como medicamento. Por lo tanto, un método de diagnóstico, tratamiento y/o prevención de una infección por el virus de la gripe usando las moléculas de unión, inmunoconjugados, composiciones, o composiciones farmacéuticas de la invención es otra parte de la presente invención. Entre otras cosas, las moléculas anteriormente mencionadas pueden usarse en el diagnóstico, profilaxis, tratamiento, o una combinación de las mismas, de una infección por el virus de la gripe causada por virus de la gripe que comprenden HA de los subtipos H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10 y/o H11. En una realización, las moléculas anteriormente mencionadas también pueden usarse en el diagnóstico, profilaxis, tratamiento o una combinación de los mismos de una infección por el virus de la gripe causada por un virus de la gripe B. Estas son adecuadas para el tratamiento de pacientes aún no tratados que padecen una infección por el virus de la gripe y pacientes que ya se han tratado o se están tratando para una infección por el virus de la gripe.

Las moléculas o composiciones anteriormente mencionadas pueden emplearse conjuntamente con otras moléculas útiles en el diagnóstico, profilaxis y/o tratamiento. Estas pueden usarse *in vitro*, *ex vivo* o *in vivo*. Por ejemplo, las moléculas de unión, tales como anticuerpos monoclonales humanos (o variantes funcionales de los mismos), inmunoconjugados, composiciones o composiciones farmacéuticas de la invención pueden coadministrarse con una vacuna contra el virus de la gripe (en caso de estar disponible). Como alternativa, también puede administrarse la vacuna antes o después de la administración de las moléculas de la invención. En lugar de una vacuna, también pueden emplearse agentes antivíricos conjuntamente con las moléculas de unión de la presente invención. Los agentes antivíricos adecuados se han mencionado anteriormente.

Las moléculas se formulan típicamente en las composiciones y composiciones farmacéuticas de la invención en una cantidad terapéutica o diagnósticamente eficaz. Como alternativa, estas pueden formularse y administrarse por separado. Por ejemplo, las otras moléculas, tales como los agentes antivíricos pueden aplicarse de manera sistémica, mientras que las moléculas de unión de la invención pueden administrarse por vía intravenosa.

El tratamiento puede estar dirigido a grupos de pacientes que son susceptibles a la infección por gripe. Dichos grupos de pacientes incluyen, pero sin limitación, por ejemplo, los ancianos (por ejemplo, ≥ 50 años de edad, ≥ 60 años de edad, y preferentemente ≥ 65 años de edad), los jóvenes (por ejemplo, ≤ 5 años de edad, ≤ 1 año de edad), pacientes hospitalizados y pacientes ya infectados que se han tratado con un compuesto antivírico pero que han mostrado una respuesta antivírica inadecuada.

Los regímenes de dosificación pueden ajustarse para proporcionar la respuesta óptima deseada (por ejemplo, una respuesta terapéutica). Un intervalo de dosificación adecuado puede ser, por ejemplo, de 0,01-100 mg/kg de peso corporal, preferentemente de 0,1-50 mg/kg de peso corporal, preferentemente de 0,01-15 mg/kg de peso corporal. Además, por ejemplo, puede administrarse un solo bolo, pueden administrarse varias dosis divididas a lo largo del tiempo o puede reducirse o aumentarse la dosis proporcionalmente según esté indicado por las exigencias de la situación terapéutica. Las moléculas y composiciones de acuerdo con la presente invención son preferentemente estériles. Los métodos para hacer que estas moléculas y composiciones sean estériles son de sobra conocidos en la

técnica. Las otras moléculas útiles para el diagnóstico, profilaxis y/o tratamiento pueden administrarse en un régimen de dosificación similar al propuesto para las moléculas de unión de la invención. En caso de administrar las otras moléculas por separado, pueden administrarse a un paciente antes de (por ejemplo, 2 min, 5 min, 10 min, 15 min, 30 min, 45 min, 60 min, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 14 horas, 16 horas, 18 horas, 20 horas, 22 horas, 24 horas, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 7 días, 2 semanas, 4 semanas o 6 semanas antes), de manera concomitante con, o posteriormente a (por ejemplo, 2 min, 5 min, 10 min, 15 min, 30 min, 45 min, 60 min, 2 horas, 4 horas, 6 horas, 8 horas, 10 horas, 12 horas, 14 horas, 16 horas, 18 horas, 20 horas, 22 horas, 24 horas, 2 días, 3 días, 4 días, 5 días, 7 días, 2 semanas, 4 semanas o 6 semanas después) de la administración de una o más de las moléculas de unión de las composiciones farmacéuticas de la invención. Normalmente se deduce el régimen de dosificación exacto durante los ensayos clínicos en pacientes humanos.

Las moléculas de unión humanas y las composiciones farmacéuticas que comprenden las moléculas de unión humanas son particularmente útiles, y a menudo preferidas, cuando se van a administrar a seres humanos como agentes terapéuticos *in vivo*, ya que la respuesta inmune del receptor al anticuerpo administrado será normalmente sustancialmente menor que la ocasionada mediante la administración de una molécula de unión monoclonal murina, quimérica o humanizada.

En otro aspecto, la invención se refiere al uso de moléculas de unión, tales como anticuerpos monoclonales humanos neutralizantes (fragmentos funcionales y variantes de los mismos), inmunoconjugados, moléculas de ácido nucleico, composiciones o composiciones farmacéuticas de acuerdo con la invención en la preparación de un medicamento para el diagnóstico, profilaxis, tratamiento, o una combinación de las mismas, de una infección por el virus de la gripe, en particular, una infección por el virus de la gripe causada por virus de la gripe que comprenden HA de los subtipos H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9, H10, y/o H11 y/o de virus de la gripe B.

Aparte de esto, los kits que comprenden al menos una molécula de unión tal como un anticuerpo monoclonal humano neutralizante (fragmentos funcionales y variantes de los mismos), al menos un inmunoconjugado, al menos una molécula de ácido nucleico, al menos una composición, al menos una composición farmacéutica, al menos un vector, al menos un hospedador de acuerdo con la invención o una combinación de los mismos forman también parte de la presente invención. Opcionalmente, los componentes anteriormente descritos de los kits de la invención están envasados en recipientes adecuados y etiquetados para el diagnóstico, profilaxis y/o tratamiento de las afecciones indicadas. Los componentes anteriormente mencionados pueden almacenarse en recipientes mono o multidosis en forma de una solución acuosa, preferentemente estéril, o en forma de una formulación liofilizada, preferentemente estéril, para reconstitución. Los recipientes pueden estar hechos de una diversidad de materiales, tales como vidrio o plástico y pueden tener un puerto de acceso estéril (por ejemplo, el recipiente puede ser una bolsa de disolución intravenosa o un vial que tiene un detenedor perforable mediante una aguja de inyección hipodérmica). El kit puede comprender además más recipientes que comprenden un tampón farmacéuticamente aceptable. Puede incluir además otros materiales deseables desde un punto de vista comercial y del usuario, incluyendo otros tampones, diluyentes, filtros, agujas, jeringas, medio de cultivo para uno o más hospedadores adecuados y, posiblemente, incluso al menos otro agente terapéutico, profiláctico o diagnóstico diferente. Puede haber instrucciones asociadas con los kits que se incluyen rutinariamente en los envases comerciales de productos terapéuticos, profilácticos o diagnósticos, que contienen información acerca de, por ejemplo, las indicaciones, uso, dosificación, fabricación, administración, contraindicaciones y/o advertencias relacionadas al uso de dichos productos terapéuticos, profilácticos o diagnósticos.

Las moléculas de unión de acuerdo con la presente invención también pueden usarse ventajosamente como un agente diagnóstico en un método *in vitro* para la detección del virus de la gripe. La invención, por lo tanto, se refiere además a un método para detectar al grupo filogenético 1 o al grupo filogenético 2 del virus de la gripe, o al virus de la gripe de subtipo B en una muestra, en donde el método comprende las etapas de (a) poner en contacto una muestra con una cantidad diagnósticamente eficaz de una molécula de unión (fragmentos funcionales y variantes de la misma) o un inmunoconjugado de acuerdo con la invención, y (b) determinar si la molécula de unión o el inmunoconjugado se une específicamente a una molécula de la muestra. La muestra puede ser una muestra biológica, incluyendo, pero sin limitación, sangre, suero, heces, esputo, aspirados nasofaríngeos, lavados bronquiales, orina, tejido u otro material biológico de sujetos (potencialmente) infectados, o una muestra no biológica, tal como agua, bebida, etc. Los sujetos (potencialmente) infectados pueden ser sujetos humanos, pero también animales que sean sospechosos de ser portadores del virus de la gripe a los que pueden realizarse pruebas para detectar la presencia del virus usando las moléculas de unión humanas o los inmunoconjugados de la invención. La muestra puede manipularse en primer lugar para hacerla más adecuada para el método de detección. Manipulación significa, entre otras cosas, tratar la muestra sospechosa de contener y/o que contiene el virus de tal forma que el virus se desintegre en los componentes antigénicos, tales como proteínas, (poli)péptidos u otros fragmentos antigénicos. Preferentemente, las moléculas de unión humanas o los inmunoconjugados de la invención se ponen en contacto con la muestra en condiciones que permitan la formación de un complejo inmunológico entre las moléculas de unión humanas y el virus o los componentes antigénicos de los mismos que puedan estar presentes en la muestra. La formación de un complejo inmunológico, en caso de haberlo, que indique la presencia del virus en la muestra, se detecta y mide posteriormente por medios adecuados. Dichos métodos incluyen, entre otras cosas, inmunoensayos de unión homogéneos y heterogéneos, tales como radioinmunoensayos (RIA), ELISA, inmunofluorescencia, inmunohistoquímica, FACS, BIACORE y análisis de transferencia de Western.

Las técnicas de ensayo preferidas, especialmente para exploración clínica a gran escala de sueros de paciente y productos de la sangre son las técnicas de ELISA y de transferencia de Western. Se prefieren particularmente las pruebas ELISA. Para su uso como reactivos en estos ensayos, las moléculas de unión o los inmunoconjugados de la invención están convenientemente unidos a la superficie interior de pocillos de microtitulación. Las moléculas de unión o los inmunoconjugados de la invención pueden unirse directamente al pocillo de microtitulación. Sin embargo, puede lograrse la unión máxima de las moléculas de unión o de los inmunoconjugados de la invención a los pocillos pretratando los pocillos con polilisina antes de la adición de las moléculas de unión o de los inmunoconjugados de la invención. Además, las moléculas de unión o los inmunoconjugados de la invención pueden unirse covalentemente por medios conocidos a los pocillos. En general, las moléculas de unión o los inmunoconjugados se usan a una concentración de 0,01 a 100 µg/ml para recubrimiento, aunque también pueden usarse tanto cantidades mayores como menores. Después se añaden las muestras a los pocillos recubiertos con las moléculas de unión o los inmunoconjugados de la invención.

Además, las moléculas de unión de la invención pueden usarse para identificar estructuras de unión específicas del virus de la gripe. Las estructuras de unión pueden ser epítomos o proteínas y/o polipéptidos. Pueden ser lineales, pero también pueden ser estructurales y/o conformacionales. En una realización, las estructuras de unión pueden analizarse mediante análisis PEPSCAN (véanse, entre otros, los documentos WO 84/03564, WO 93/09872, Slootstra *et al.*, 1996). Como alternativa, puede explorarse una biblioteca de péptidos aleatoria que comprende péptidos de una proteína del virus de la gripe en busca de péptidos capaces de unirse a las moléculas de unión de la invención.

La invención se ilustra además en los siguientes ejemplos y figuras. Los ejemplos no pretenden limitar el alcance de la invención de modo alguno.

Ejemplos

Ejemplo 1 Construcción de bibliotecas de presentación en fagos de scFv usando ARN extraído de células mononucleares de sangre periférica

Se recogió sangre periférica de donantes sanos normales mediante venipunción en tubos de muestra anticoagulación con EDTA. Las bibliotecas de presentación de fagos de scFv se obtuvieron tal como se describe en el documento WO 2008/028946, que se incorpora al presente documento por referencia. El ARN se aisló de células mononucleares de sangre periférica y se preparó el ADNc. Se aplicó una estrategia de amplificación PCR en dos rondas usando los conjuntos de cebadores mostrados en las tablas 1 y 2 para aislar las regiones VH y VL de inmunoglobulina del repertorio de donante respectivo.

La primera ronda de amplificación en el ADNc respectivo usando el conjunto de cebadores mencionado en la tabla 1 produjo 7, 6 y 9 productos de aproximadamente 650 pares de bases para, respectivamente, las regiones VH, Vkappa y Vlambda. Para la amplificación de la región VH de IgM, se usó el cebador constante OCM en combinación con OH1 a OH7. El programa de ciclado térmico para la primera ronda de amplificaciones fue: 2 min 96 °C (etapa de desnaturalización), 30 ciclos de 30 s 96 °C/ 30 s 60 °C/ 60 s 72 °C, 10 min 72 °C de elongación final y refrigeración a 6 °C. Los productos se cargaron sobre y se aislaron a partir de un gel de agarosa al 1% usando columnas de extracción de gel (Macherey Nagel) y se eluyeron en 50 µl de Tris-HCl 5 mM, pH 8.0. Se sometió a un diez por ciento de los productos de la primera ronda (de 3 a 5 µl) a una segunda ronda de amplificación usando los cebadores mencionados en la tabla 2. Estos cebadores se extendieron con sitios de restricción que permitían la clonación direccional de las respectivas regiones VL y VH en el vector de presentación de fago PDV-C06. El programa PCR para la segunda ronda de amplificación fue el siguiente: 2 min 96 °C (etapa de desnaturalización), 30 ciclos de 30 s 96 °C/ 30 s 60 °C/ 60 s 72 °C, 10 min 72 °C de elongación final y refrigeración a 6 °C. Los productos de la segunda ronda (~350 pares de bases) se agruparon en primer lugar según la aparición natural de segmentos J hallados en los productos génicos de inmunoglobulina, dando como resultado 7, 6 y 9 agrupaciones para, respectivamente, las regiones VH, Vkappa y Vlambda variables (véanse las tablas 3 y 4). Para obtener una distribución normalizada de las secuencias de inmunoglobulina en la biblioteca inmunitaria, se mezclaron las agrupaciones de 6 Vkappa y 9 Vlambda de cadena ligera según los porcentajes mencionados en la tabla 3. Esta agrupación final de VL (3 µg) se digirió durante una noche con las enzimas de restricción Sall y NotI, se cargaron en y se aislaron a partir de un gel de agarosa al 1 % (~350 pares de bases) usando columnas de extracción de gel de Macherey Nagel y se ligaron en el vector PDV-C06 cortado con Sall-NotI (~5000 pares de bases) del modo siguiente: 10 µl de vector PDV-C06 (50 ng/µl), 7 µl de inserto de VL (10 ng/µl), 5 µl de tampón de ligamiento 10X (NEB), 2,5 ADN ligasa T4 (400 U/µl) (NEB), 25,5 µl de agua ultrapura (la relación de vector a inserto fue de 1:2). La ligadura se llevó a cabo durante una noche en un baño de agua a 16 °C. A continuación, se duplicó el volumen con agua, se extrajo con un volumen igual de fenol-cloroformo-alcohol isoamílico (75:24:1) (Invitrogen) seguido de extracción en cloroformo (Merck) y se precipitó con 1 µl de Pellet Paint (Novogen), 10 µl de acetato de sodio (3 M, pH 5,0) y 100 µl de isopropanol durante 2 h a -20°C. Posteriormente se centrifugó la muestra obtenida a 20.000 x g durante 30 min a 4°C. El precipitado obtenido se lavó con etanol al 70% y se centrifugó durante 10 min a 20.000 x g a temperatura ambiente. El etanol se retiró mediante aspiración de vacío y el sedimento se secó al aire durante varios minutos y después se disolvió en 50 µl de tampón que contenía Tris-HCl 10 mM, pH 8,0. Se usaron 2 µl de la mezcla de ligadura para la transformación de 40 µl de células TG-1 electro-competentes (Agilent) en una cubeta

para electroporación enfriada de 0,1 cm (Biorad) usando un aparato Genepulser II (Biorad) ajustado a 1,7 kV, 200 Ohm, 25 µF (tiempo constante ~4,5 ms). Directamente después del pulso, se descargaron las bacterias de la cubeta con 1000 µl de medio SOC (Invitrogen) que contenía glucosa al 5% (p/v) (Sigma) a 37°C y se transfirieron a un tubo de cultivo de fondo redondo de 15 ml. Se usaron otros 500 µl de SOC/glucosa para descargar las bacterias residuales de la cubeta y se añadieron al tubo de cultivo. Las bacterias se recuperaron mediante cultivo durante exactamente una hora a 37 °C en un incubador con agitación a 220 rpm. Las bacterias transformadas se emplacaron en grandes placas de Petri de 240 mm (NUNC) que contenían 150 ml de agar 2TY (bacto-triptona 16 g/l, bacto-extracto de levadura 10 g/l, NaCl 5 g/l, agar 15 g/l, pH 7,0) complementado con 50 µg/ml de ampicilina y glucosa al 5 % (p/v) (Sigma). Se emplacó una dilución de 1 a 1000 con fines de conteo en placas de Petri de 15 cm que contenían el mismo medio. Se repitió secuencialmente este procedimiento de transformación diez veces y se emplacó el total de cada transformación en una placa de Petri cuadrada individual y se cultivó durante una noche en una estufa de cultivo a 37 °C. Típicamente, se obtuvieron aproximadamente 1×10^7 ufc (1×10^6 por placa de Petri) usando el protocolo anterior. La biblioteca de cadena ligera VL intermedia se recogió de las bacterias raspando suavemente las bacterias en 10 ml de medio 2TY por placa. Se determinó la masa celular mediante medición de la DO600 y dos veces se usó la DO 500 de bacterias para la preparación de ADN maxi plásmido usando dos columnas maxiprep P500 (Macherey Nager) según las instrucciones del fabricante.

De manera análoga a las regiones variables VL, los productos de VH-JH de la segunda ronda se mezclaron en primer lugar entre sí para obtener la distribución de uso normal del segmento J (véase la tabla 4), dando como resultado 7 subgrupos de VH denominados PH1 a PH7. Se mezclaron las agrupaciones para adquirir una distribución de secuencia normalizada usando los porcentajes ilustrados en la tabla 4, obteniendo una fracción de VH que se digirió con las enzimas de restricción SfiI y XhoI y se ligaron en la biblioteca intermedia de PDV-VL cortada con SfiI-XhoI obtenida tal como se ha descrito anteriormente. La configuración de la ligadura, el método de purificación, la posterior transformación de TG1 y la recogida de bacterias fue esencialmente como se ha descrito para la biblioteca intermedia de VL (véase lo anterior) con la excepción de que se usaron 20 transformaciones y 20 placas de Petri cuadradas. Se comprobó la biblioteca final (aproximadamente 1×10^7 ufc) respecto de la frecuencia del inserto con una PCR para colonias usando un conjunto de cebadores que flanquea a las regiones VH-VL insertadas. El 90 % de las colonias mostró un inserto de longitud correcta. Los productos de la PCR para colonias se usaron para el posterior análisis de secuencia de ADN para comprobar la variación de secuencia y para evaluar el porcentaje de colonias que mostraban un ORF completo. Este fue del 76 %. Finalmente, se rescató la biblioteca y se amplificó mediante el uso de fagos colaboradores CT (véase el documento WO 02/103012) y se usó para la selección de anticuerpo de fago mediante métodos de paneo como se describen más adelante.

Ejemplo 2

Selección de fagos que portan fragmentos Fv monocatenarios contra hemaglutinina de la gripe A y de la gripe B

Los fragmentos de fago se seleccionaron usando bibliotecas de presentación en fagos construidas esencialmente como se ha descrito anteriormente y la tecnología de presentación en fagos general y la tecnología MABSTRACT®, esencialmente como se describe en la Patente de los Estados Unidos n.º 6.265.150 y en el documento WO 98/15833 (incorporándose ambos por referencia al presente documento). Además, se usaron en la presente invención los métodos y los fagos colaboradores tal como se describe en el documento WO 02/103012 (que se incorpora al presente documento por referencia).

La selección se efectuó contra hemaglutinina (HA) recombinante de la gripe A del subtipo H1 (A/New Caledonia/20/99), H3 (A/Wisconsin/67/2005), H4 (A/Duck/Hong Kong/24/1976), H5 (A/Chicken/Vietnam/28/2003), H7 (A/Netherlands/219/2003) y H9 (A/HongKong/1073/99). Los antígenos de HA se diluyeron en PBS (5,0 µg/ml), se añadieron a inmunotubos MaxiSorp™ (Nunc) y se incubaron durante una noche a 4°C en una rueda rotatoria. Los inmunotubos se vaciaron y lavaron tres veces en tampón de bloqueo (leche deshidratada desgrasada al 2 % (ELK) en PBS). Posteriormente, se cargaron completamente los inmunotubos con tampón de bloqueo y se incubaron durante 1-2 horas a temperatura ambiente. Se bloquearon alícuotas de la biblioteca de presentación en fagos (500-1000 µl, $0,5 \times 10^{13}$ - 1×10^{13} ufc, amplificadas con fago colaborador CT (véase el documento WO 02/103012)) en tampón de bloqueo complementado con suero fetal bovino al 10% no inactivado por calor y suero de ratón al 2 % durante 1-2 h a temperatura ambiente. La biblioteca de fago bloqueada se añadió a los inmunotubos, se incubó durante 2 horas a temperatura ambiente, y se lavó con tampón de lavado (Tween-20 al 0,05 % (v/v) en PBS) para retirar los fagos no unidos. Los fagos unidos se eluyeron del antígeno respectivo mediante incubación con 1 ml de trietilamina (TEA) 100 mM durante 10 min a temperatura ambiente. Posteriormente, se mezclaron los fagos eluidos con 0,5 ml de Tris-HCl 1 M, pH 7,5, para neutralizar el pH. Esta mezcla se usó para infectar 5 ml de un cultivo de *E. coli* XL1-Blue que se había cultivado a 37°C hasta una DO 600 nm de aproximadamente 0.3. Se dejó que los fagos infectasen a las bacterias XL1-Blue durante 30 min a 37 °C. Después, se centrifugó la mezcla durante 10 min a 3000 x g a temperatura ambiente y se resuspendió el sedimento bacteriano en 0,5 ml de medio de extracto de levadura 2-triptona (2TY). La suspensión bacteriana obtenida se dividió en dos placas de agar de 2TY complementadas con tetraciclina, ampicilina y glucosa. Después de la incubación de las placas una noche a 37 °C, se rasparon las colonias de las placas y se usaron para preparar una biblioteca de fago enriquecida, esencialmente del modo descrito por De Kruif *et al.* (1995) y en el documento WO 02/103012. Brevemente, se usaron las bacterias raspadas para inocular el medio 2TY que contenía ampicilina, tetraciclina y glucosa y se cultivaron a una temperatura de 37 °C

hasta una DO 600 nm de ~0,3. Se añadieron fagos auxiliares CT y se dejaron infectar las bacterias, tras lo cual se cambió el medio a 2TY que contenía ampicilina, tetraciclina y kanamicina. Se continuó la incubación durante una noche a 30 °C. Al día siguiente, se retiraron las bacterias del medio 2TY mediante centrifugación, tras lo cual se precipitaron los fagos en el medio usando polietilenglicol (PEG) 6000/NaCl. Finalmente, se disolvieron los fagos en 2 ml de PBS con albúmina sérica bovina (BSA) al 1 %, se esterilizaron por filtración y se usaron para la ronda de selección siguiente. La segunda ronda de selección se lleva a cabo en el mismo subtipo de HA y/o en HA de un subtipo diferente.

Se efectuaron dos rondas de selecciones consecutivas antes del aislamiento de los anticuerpos de fago monocatenarios individuales. Después de la segunda ronda de selección, se usaron colonias de *E. coli* individuales para preparar anticuerpos de fago monoclonales. Esencialmente, se cultivaron las colonias individuales hasta fase logarítmica en un formato de placa de 96 pocillos con fagos colaboradores VCS-M13, tras lo cual se dejó que se produjera la producción de anticuerpo de fago. Se analizó la secuencia de los fagémidos y se usaron fagémidos totalmente únicos para ensayos posteriores. Se usaron los sobrenadantes que contenían anticuerpos de fago directamente en el ELISA para la unión a los antígenos de HA. Como alternativa, los anticuerpos de fago se precipitaron con PEG/NaCl y se esterilizaron por filtración para análisis tanto ELISA como por citometría de flujo.

Ejemplo 3

Validación de los anticuerpos de fago monocatenarios específicos para HA

Los sobrenadantes seleccionados que contenían anticuerpos de fago monocatenarios que se obtuvieron en las exploraciones descritas anteriormente fueron validados en ELISA respecto de su especificidad, es decir, unión a diferentes antígenos de HA. Para este fin, se recubrieron placas para ELISA Maxisorp™ con H1 (A/New Caledonia/20/99), H3 (A/Wisconsin/67/2005), H5 (A/Vietnam/1203/04) H7 (A/Netherlands/219/2003), y B (B/Ohio/01/2005) HA expresadas en baculovirus (Protein Sciences, CT, EE.UU.). Después del recubrimiento, se lavaron las placas tres veces con PBS que contenía Tween-20 al 0,1 % v/v y se bloquearon en PBS que contenía BSA al 3 % o ELK al 2 % durante 1 h a temperatura ambiente. Los anticuerpos de fago monocatenarios seleccionados se incubaron durante 1 h en un volumen igual de PBS que contenía ELK al 4 % para obtener anticuerpos de fago bloqueados. Se vaciaron las placas, se lavaron tres veces con PBS/Tween-20 al 0,1 % y se añadieron los anticuerpos de fago monocatenarios bloqueados a los pocillos. Se dejó que se avanzase la incubación durante una hora, se lavaron las placas con PBS/Tween-20 al 0,1 % y los anticuerpos de fago unidos se detectaron (usando la medición de la DO a 492 nm) usando un anticuerpo anti-M13 conjugado a peroxidasa. Como control, se llevó a cabo el procedimiento de manera simultánea sin un anticuerpo de fago monocatenario y con un anticuerpo de fago monocatenario de control negativo no relacionado. A partir de las selecciones de los diferentes antígenos de HA con las bibliotecas de fago, se obtuvieron 13 anticuerpos de fago monocatenarios que se unen de manera específica al virus de la gripe A H1, H3, H5, H7 y del virus de la gripe B (SC09-003, SC09-004, SC09-005, SC09-006, SC09-007, SC09-008, SC09-009, SC09-010, SC09-011, SC09-030, SC09-112, SC09-113 y SC09-114). Véase la tabla 5.

Como alternativa, los anticuerpos de fago precipitados con PEG/NaCl y esterilizados por filtración se usaron para validar la unión y la especificidad mediante análisis FACS. Para este fin, se expresaron las HA de los subtipos H1 (A/New Caledonia/20/1999), H3 (A/Wisconsin/67/2005) y H7 (A/Netherlands/219/2003) de gripe A recombinantes de longitud completa en la superficie de células PER.C6. Las células se incubaron con anticuerpos de fago monocatenarios durante 1 h seguido de tres etapas de lavado con PBS+BSA al 0,1%. Los fagos unidos se detectaron usando el anticuerpo M13 conjugado a FITC. A partir de las selecciones de los diferentes antígenos de HA con las bibliotecas de fago, se hallaron 14 anticuerpos de fago monocatenarios que se unen específicamente a HA de los subtipos H1, H3 y H7 de gripe A (SC09-003, SC09-004, SC09-005, SC09-006, SC09-007, SC09-008, SC09-009, SC09-010, SC09-011, SC09-012, SC09-030, SC09-112, SC09-113 y SC09-114). Véase la tabla 6.

Todos los 16 anticuerpos de fago, SC09-003, SC09-004, SC09-005, SC09-006, SC09-007, SC09-008, SC09-009, SC09-010, SC09-011, SC09-012, SC09-029, SC09-030, SC09-031, SC09-112, SC09-113 y SC09-114, se usaron para la construcción de inmunoglobulinas completamente humanas.

Ejemplo 4

Construcción de moléculas de inmunoglobulina completamente humanas (anticuerpos monoclonales humanos) a partir de los Fv monocatenarios seleccionados

A partir de los anticuerpos de fago monocatenarios (scFv) específicos seleccionados, se obtuvieron clones de ADN plasmídico y se determinaron las secuencias de nucleótidos y de aminoácidos de acuerdo con técnicas convencionales. Se clonaron las regiones variables de cadena pesada y ligera de los scFv directamente mediante digestión de restricción para la expresión en los vectores de expresión de IgG plg-C911-HCgamma1 (véase la SEQ ID NO: 175), plg-C909-Ckappa (véase la SEQ ID NO: 176), o plg-C910-Clambda (véase la SEQ ID NO: 177). Se determinó la identidad génica de VH y VL (véase Tomlinson IM et al. V-BASE Sequence Directory. Cambridge, Reino Unido: MRC Centre for Protein Engineering (1997)) de los scFv (véase la tabla 7).

Se verificaron las secuencias de nucleótidos para todas las construcciones según técnicas convencionales conocidas para el experto en la materia. Las construcciones de expresión resultantes que codifican las cadenas pesadas y ligeras de IgG1 se expresaron de manera transitoria en combinación en células 293T y se obtuvieron sobrenadantes que contenían anticuerpos IgG1 humanos y se produjeron usando procedimientos de purificación convencionales.

La secuencia de aminoácidos de las CDR de las cadenas pesada y ligera de las moléculas de inmunoglobulina seleccionadas se proporcionan en la tabla 7.

El número de diferencias de aminoácidos y el % de identidad de todos los dominios variables de las cadenas pesada y ligera se proporcionan en la tabla 8.

Ejemplo 5

Reactividad de unión cruzada de las IgG

Un panel de cinco de los anticuerpos IgG descritos anteriormente, CR9005, CR9030, CR9112, CR9113 y CR9114, se validó en ELISA respecto de su especificidad de unión, es decir, unión a diferentes antígenos de HA. Para este fin, se recubrieron placas para ELISA Maxisorp™ con H1 (A/New Caledonia/20/1999), H3 (A/Wisconsin/67/2005), H5 (A/Vietnam/1203/04) H7 (A/Netherlands/219/2003) y H9 (A/HongKong/1073/99) HA expresadas en baculovirus (Protein Sciences, CT, EE.UU.). Después del recubrimiento, se lavaron las placas tres veces con PBS que contenía Tween-20 al 0,1 % v/v y se bloquearon en PBS que contenía BSA al 3 % o ELK al 2 % durante 1 h a temperatura ambiente. Se vaciaron las placas, se lavaron tres veces con PBS/Tween-20 al 0,1 % y se añadieron los anticuerpos IgG a los pocillos. Se dejó que se avanzase la incubación durante una hora, se lavaron las placas con PBS/Tween-20 al 0,1 % y los anticuerpos unidos se detectaron (usando la medición de la DO a 492 nm) usando un anticuerpo anti-IgG humana conjugado a peroxidasa. Como control, se usó una IgG CR4098 no relacionada.

Se demostró que CR9005, CR9030, CR9112, CR9113 y CR9114 tienen actividad de unión cruzada heterosubtípica para todas las HA recombinantes ensayadas. Véase la tabla 9.

Además, se usaron los anticuerpos seleccionados para ensayar la unión heterosubtípica mediante análisis FACS. Para este fin, se expresaron las HA de los subtipos H1 (A/New Caledonia/20/1999), H3 (A/Wisconsin/67/2005) y H7 (A/Netherlands/219/2003) de gripe A recombinantes de longitud completa en la superficie de células PER.C6. Las células se incubaron con anticuerpos IgG durante 1 h seguido de tres etapas de lavado con PBS+BSA al 0,1%. Los anticuerpos unidos se detectaron usando anticuerpo anti-humano conjugado a PE. Como control, se usaron células PER.C6 no transfectadas. CR9005, CR9030, CR9112, CR9113 y CR9114 muestran actividad de unión cruzada a los subtipos H1, H3 y H7 de HA de gripe A pero no a las células PER.C6 de tipo silvestre. Véase la tabla 9.

Ejemplo 6

Actividad de neutralización cruzada de las IgG

Para determinar si las IgG seleccionadas eran capaces de bloquear múltiples cepas de gripe A, se llevaron a cabo ensayos de neutralización de virus *in vitro* (VNA) adicionales. Los VNA se llevaron a cabo en células MDCK (ATCC CCL-34). Las células MDCK se cultivaron en medio de cultivo para células MDCK (medio MEM complementado con antibióticos, Hepes 20 mM y bicarbonato de sodio al 0,15 % (p/v) (medio MEM completo), complementado con suero fetal bovino al 10 % (v/v). Las cepas de H1 (A/WSN/33, A/New Caledonia/20/1999, A/Solomon Islands/IVR-145 (reorganizante de alto crecimiento de A/Solomon Islands/3/2006), A/Brisbane/59/2007, A/NYMC/X-181 (reorganizante de alto crecimiento de A/California/07/2009), H2 (A/Env/MPU3156/05), H3 (A/Hong Kong/1/68, A/Johannesburg/33/94, A/Panama/2000/1999, A/Hiroshima/52/2005, A/Wisconsin/67/2005 and A/Brisbane/10/2007), H4 (A/WF/HK/MPA892/06), H5 (PR8-H5N1-HK97 (6:2 reorganizante de A/Hong Kong/156/97 and A/PR/8/34) y A/Eurasian Wigeon/MPF461/07), H6 (A/Eurasian Wigeon/MPD411/07), H7 (NIBRG-60 (6:2 reorganizante de A/Mallard/Netherlands/12/2000) and PR8-H7N7-NY (7:1 reorganizante de A/New York/107/2003 (H7N7) y A/PR/8/34)), H8 (A/Eurasian Wigeon/MPH571/08) H9 (A/Hong Kong/1073/99 y A/Chick/HK/SSP176/09), H10 (A/Chick/Germany/N/49) y H14 (PR8-H14N5 (6:2 reorganizante de A/mallard/Astrakhan/263/1982 (H14N5) and A/PR/8/34)) que se usaron en el ensayo se diluyeron a un título de $5,7 \times 10^3$ TCID50/ml (50% de la dosis infecciosa para cultivo de tejidos por ml), calculándose el título según el método de Spearman y Karber. Las preparaciones de IgG (200 µg/ml) se diluyeron en serie 2 veces (1:2 - 1:512) en medio MEM completo en pocillos cuadruplicados. Se mezclaron 25 µl de la respectiva dilución de IgG con 25 µl de suspensión de virus (100 TCID50/25 µl) y se incubó durante una hora a 37°C. Después se transfirió la suspensión por cuadruplicado a placas de 96 pocillos que contenían cultivos confluentes de MDCK en 50 µl de medio MEM completo. Antes de su uso, se sembraron las células MDCK a 3×10^4 células por pocillo en medio de cultivo celular para MDCK, se cultivaron hasta que las células alcanzaron la confluencia, se lavaron con 300-350 µl de PBS, pH 7,4 y finalmente se añadieron 50 µl de medio MEM completo a cada pocillo. Las células inoculadas se cultivaron durante 3-4 días a 37°C y se observaron a diario respecto del desarrollo de efectos citopatológicos (CPE). El CPE se comparó con el control positivo.

CR9005, CR9112, CR9113 y CR9114 muestran actividad de neutralización cruzada heterosubtípica contra cepas representativas de todos los subtipos ensayados de gripe A de H1, H2, H3, H4, H5, H6, H7, H8, H9 y H10. Véase la tabla 10.

5 Ejemplo 7

Los anticuerpos pan-gripe se unen a la conformación pre-fusión de HA

Para determinar si las IgG seleccionadas eran capaces de unirse a la conformación pre- o post-fusión de la molécula de HA, se llevó a cabo un experimento de cambio de pH *in vitro*. Para este fin, se expresaron los subtipos recombinantes de longitud completa de H1 (A/New Caledonia/20/99), H3 (A/Wisconsin/67/2005), H5 (A/Vietnam/1203/04), H7 (A/Netherlands/219/03) y H9 (A/Hong Kong/1073/99) de HA de gripe A recombinante en la superficie de células PER.C6. Para medir la unión de mAb a diferentes conformaciones estructurales de HA, se desprendieron las células del soporte plástico usando PBS-EDTA y posteriormente se trataron con tripsina (TrypLE™ Select, Gibco) durante 5 min a TA, se lavaron (BSA al 1% en PBS) y se incubaron durante 15 min en tampón de ácido cítrico-fosfato sódico (pH 4,9). Se apartaron muestras de células después de cada etapa de procesamiento (sin tripsinizar/HA0; tripsinizadas/HA1-HA2; pH 4,9/HA de fusión) y se incubaron fracciones de cada tratamiento con mAb CR9114 durante 1 hora. Entonces se incubaron las células durante 30 min con IgG anti-humano conjugada a ficoeritrina (Southern Biotech) en BSA al 1 %. Las células teñidas se analizaron usando un FACS Canto con el programa informático FACS Diva (Becton Dickinson). La unión de FACS de las IgG1 a HA expresada en la superficie se produjo después del tratamiento secuencial con tripsina y medio tamponado a pH 4,9 y se expresó como porcentaje de unión a HA no tratado (A). Véase la figura 1A.

El anticuerpo CR9114 muestra una reducción marcada en la unión después del cambio de pH, lo que indica especificidad por un epítipo presente únicamente antes del cambio conformacional inducido por bajo pH de la molécula de HA.

Como alternativa, para ensayar si las IgG pueden bloquear el cambio conformacional inducido por bajo pH de la HA, se añadió el anticuerpo CR9117 antes de la etapa de bajo pH. Se separaron muestras de tratamientos consecutivos y se tiñeron con IgG anti-humano conjugada a ficoeritrina (Southern Biotech). Las células teñidas se analizaron usando un FACS Canto con el programa informático FACS Diva (Becton Dickinson). Véase la fig. 1B. El anticuerpo CR9114 muestra un alto nivel de unión residual a las diversas HA después del cambio de pH, lo que indica que cuando estos anticuerpos se unen a la molécula de HA, no se produce el cambio conformacional inducido por bajo pH.

35 Ejemplo 8

Mediciones de afinidad de Fab en diversas HA de gripe A y B.

Se adquirieron HA solubles recombinante de A/New Caledonia/20/1999 (H1), A/Brisbane/59/2007 (H1), A/Wisconsin/67/2005 (H3), A/Brisbane/10/2007 (H3, B/Florida/4/2006 (B), B/Brisbane/60/2008 (B) y B/Malaysia/2506/2004 (B) producida usando vectores baculovíricos en células de insecto a través de Protein Sciences Corp (CT, EE.UU.) y se biotinilaron a temperatura ambiente (TA) durante 40 min usando EZ-link sulfo-NHS-LC-LC-biotina (Pierce). Se llevó a cabo la etapa de intercambio de tampón a PBS usando filtros para centrifugación Amicon Ultra de 0,5 ml (Millipore). La HA biotinilada se unió a sensores de estreptavidina a 37 °C durante 1200 segundos. La asociación del fragmento Fab de CR9005, CR9112, CR9113 y CR9114 a HA se midió en Octet QK (ForteBio) durante 700 segundos a 37 °C exponiendo los sensores a 100 nM de anticuerpo en tampón cinético 1x (ForteBio). La disociación de los fragmentos Fab se evaluó exponiendo los sensores a tampón cinético 1x durante 9000 segundos a 37 °C. Los fragmentos Fab de CR9005, CR9112, CR9113 y CR9114 se unen con afinidades de micro a picomolares a H1, H3 y a HA de gripe B.

Ejemplo 9

Competición por la unión con otros anticuerpos de unión al tallo

Se adquirieron HA solubles recombinantes de A/New Caledonia/20/1999 (H1N1) y A/Wisconsin/67/2005 (H3N2) producidas usando vectores baculovíricos en células de insecto a través de Protein Sciences Corp (CT, EE.UU.) y se biotinilaron a temperatura ambiente (TA) durante 40 min usando EZ-link sulfo-NHS-LC-LC-biotina (Pierce). Se llevó a cabo la etapa de intercambio de tampón a PBS usando filtros para centrifugación Amicon Ultra de 0,5 ml (Millipore). La HA biotinilada se unió a sensores de estreptavidina a 37 °C durante 1200 segundos. La asociación de los anticuerpos CR9114 y CR6261 a HA H1 se midió en Octet QK (ForteBio) durante 700 segundos a 37 °C exponiendo los sensores a 100 nM de anticuerpo en tampón cinético 1x (ForteBio) tras lo cual se evaluó el grado de unión adicional exponiendo los sensores a un segundo anticuerpo (100 nM en tampón cinético 1x) en presencia del primer anticuerpo (100 nM) durante 700 segundos a 37 °C. Como control, se empleó el mAb CR9020, que se une a la cabeza globular de H1. La asociación de los anticuerpos CR9114 y CR8020 a HA H3 se midió en Octet QK (ForteBio) durante 900 segundos a 37 °C exponiendo los sensores a 100 nM de anticuerpo en tampón cinético 1x

(ForteBio) tras lo cual se evaluó el grado de unión adicional exponiendo los sensores a un segundo anticuerpo (100 nM en tampón cinético 1x) en presencia del primer anticuerpo (100 nM) durante 900 segundos a 37 °C. Como control, se empleó el mAb CR8057, que se une a la cabeza globular de H3.

- 5 CR9114 compite por la unión a HA H1 con CR6261 y a HA H3 con CR8020. Por lo tanto, CR9114 se une probablemente a un epítipo solapante con los dos epítopos de CR6261 y CR8020 en la región de tallo de HA. (Véase la fig. 2).

Ejemplo 10

10

*Actividad profiláctica del anticuerpo monoclonal de IgG CR9114 contra la exposición letal a gripe B *in vivo**

Se llevó a cabo un estudio para probar el efecto profiláctico del anticuerpo monoclonal CR9114 contra una exposición letal con virus de la gripe B *in vivo*. Se ensayó el mAb CR9114 respecto de su eficacia profiláctica en un modelo de ratón de exposición letal con el virus de la gripe B/Florida/04/2006 adaptado a ratón (Central Veterinary Institute (CVI), Lelystad, Países Bajos). Se adaptó el virus B/Florida/04/2006 a los ratones después de 5 pases de pulmón a pulmón. El virus del pase 5 de gripe B adaptado a ratón se propagó en huevos de pollo embrionados en el laboratorio del CVI. Todos los ratones (Balb/c, hembras, 6-8 semanas de edad, n=10 por grupo) se aclimataron y mantuvieron durante un periodo de al menos 4 días antes del inicio del experimento. Se dosificó el mAb CR9114 a 15 mg/kg por vía intravenosa en la vena caudal (*vena coccygeus*) en el día -1 antes de la exposición, asumiendo un peso medio de 18 g por ratón y un volumen de dosis fijo de 0,2 ml. Al grupo de control se le dosificó con control de vehículo. Después se expuso a los ratones en el día 0 con 25 DL₅₀ de virus de la gripe B B/Florida/04/2006 mediante inoculación intranasal. Se determinaron a diario los signos clínicos y los pesos corporales desde el día -1 antes de la exposición hasta el día 8. Los signos clínicos se puntuaron con un sistema de puntuación (0=sin signos clínicos; 1=pelo duro; 2=pelo duro, menos reactivo durante la manipulación; 3=pelo duro, enroscado, dificultad respiratoria, menos reactivo durante la manipulación; 4=pelo duro, enroscado, dificultad respiratoria, respuesta inactiva a manipulaciones). Con una puntuación de 4, se eutanasió al animal.

Todos los ratones permanecieron activos y parecían sanos, sin mostrar signos de enfermedad durante el periodo de aclimatación. La fig. 3A muestra la tasa de supervivencia de los ratones, después de la administración del mAb. Los ratones a los que se dosificaron 15 mg/kg de mAb CR9114 mostraron una tasa de supervivencia del 100 %, mientras que del grupo de mAb de control, sobrevivió el 50 %.

En la figura 3B se muestra el cambio medio de peso corporal de los ratones durante el periodo de estudio de 8 días después de la administración del mAb. En el grupo de mAb CR9114, los ratones no perdieron peso durante el periodo de estudio de 8 días, mientras que en el grupo de control de vehículo se observó pérdida de peso. La mediana de las puntuaciones clínicas de los ratones se muestran en la fig. 3C. De los ratones tratados con 15 mg/kg de mAb CR9114 en el día -1 antes de la exposición, todos sobrevivieron y ninguno de los animales mostró signos clínicos durante el periodo de observación (desde el día 0 hasta el día 8 después de la infección). Estos resultados demuestran que el anticuerpo humano anti-gripe CR9114, identificado y desarrollado del modo descrito en el presente documento, es capaz de proporcionar protección contra una dosis letal de virus de la gripe B *in vivo*. Cuando se administra un día antes de la infección a una dosis de 15 mg/kg o mayor, el mAb CR9114 fue capaz de prevenir completamente la manifestación clínica de la infección por gripe B en ratones.

45

Tabla 1. Primera ronda de amplificaciones de V_{kappa}, V_{lambda} y V_H

Nombre del cebador	Secuencia de nucleótidos del cebador	SEQ ID NO:
OK1 (HuVK1B)	GAC ATC CAG WTG ACC CAG TCT CC	65
OK2 (HuVK2)	GAT GTT GTG ATG ACT CAG TCT CC	66
OK3 (HuVK2B2)	GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CC	67
OK4 (HuVK3B)	GAA ATT GTG WTG ACR CAG TCT CC	68
OK5 (HuVK5)	GAA ACG ACA CTC ACG CAG TCT CC	69
OK6 (HuVK6)	GAA ATT GTG CTG ACT CAG TCT CC	70
OCK (HuCK)	ACA CTC TCC CCT GTT GAA GCT CTT	71
OL1 (HuVL1A)*	CAG TCT GTG CTG ACT CAG CCA CC	72
OL1 (HuVL1B)*	CAG TCT GTG YTG ACG CAG CCG CC	73
OL1 (HuVLIC)*	CAG TCT GTC GTG ACG CAG CCG CC	74
OL2 (HuVL2B)	CAG TCT GCC CTG ACT CAG CC	75
OL3 (HuVL3A)	TCC TAT GWG CTG ACT CAG CCA CC	76
OL4 (HuVL3B)	TCT TCT GAG CTG ACT CAG GAC CC	77
OL5 (HuVL4B)	CAG CYT GTG CTG ACT CAA TC	78
OL6 (HuVL5)	CAG GCT GTG CTG ACT CAG CCG TC	79
OL7 (HuVL6)	AAT TTT ATG CTG ACT CAG CCC CA	80

Nombre del cebador	Secuencia de nucleótidos del cebador	SEQ ID NO:
OL8 (HuVL7/8)	CAG RCT GTG GTG ACY CAG GAG CC	81
OL9 (HuVL9)#	CWG CCT GTG CTG ACT CAG CCM CC	82
OL9 (HuVL10)#	CAG GCA GGG CTG ACT CAG	83
OCL (HuCL2)X	TGA ACA TTC TGT AGG GGC CAC TG	84
OCL (HuCL7)X	AGA GCA TTC TGC AGG GGC CAC TG	85
OH1(HuVH1B7A)+	CAG RTG CAG CTG GTG CAR TCT GG	86
OH1 (HuVH1C)+	SAG GTC CAG CTG GTR CAG TCT GG	87
OH2 (HuVH2B)	CAG RTC ACC TTG AAG GAG TCT GG	88
OH3 (HuVH3A)	GAG GTG CAG CTG GTG GAG	89
OH4 (HuVH3C)	GAG GTG CAG CTG GTG GAG WCY GG	90
OH5 (HuVH4B)	CAG GTG CAG CTA CAG CAG TGG GG	91
OH6 (HuVH4C)	CAG STG CAG CTG CAG GAG TCS GG	92
OH7 (HuVH6A)	CAG GTA CAG CTG CAG CAG TCA GG	93
OCM (HuClgM)	TGG AAG AGG CAC GTT CTT TTC TTR	94
* Mezcla a una relación 1:1:1 # Mezcla a una relación 1:1 X Mezcla a una relación 1:1 + Mezcla a una relación 1:1		

Tabla 2. Segunda ronda de amplificaciones de Vkappa, Vlambda y VH

Nombre del cebador	Secuencia de nucleótidos del cebador	SEQ ID NO
OK1S (HuVK1B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAC ATC CAG WTG ACC CAG TCT CC	95
OK2S (HuVK2-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAT GTT GTG ATG ACT CAG TCT CC	96
OK3S (HuVK2B2-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAT ATT GTG ATG ACC CAG ACT CC	97
OK4S (HuVK3B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ATT GTG WTG ACR CAG TCT CC	98
OK5S (HuVK5-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ACG ACA CTC ACG CAG TCT CC	99
OK6S (HuVK6-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG GAA ATT GTG CTG ACT CAG TCT CC	100
OJK1 (HuJK1-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT TTC CAC CTT GGT CCC	101
OJK2 (HuJK2-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT CTC CAG CTT GGT CCC	102
OJK3 (HuJK3-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT ATC CAC TTT GGT CCC	103
OJK4 (HuJK4-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT GAT CTC CAC CTT GGT CCC	104
OJK5 (HuJK5-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACG TTT AAT CTC CAG TCG TGT CCC	105
OL1S (HuVL1A-SAL)*	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTG CTG ACT CAG CCA CC	106
OL1S (HuVL1B-SAL)*	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTG YTG ACG CAG CCG CC	107
OL1S (HuVL1C-SAL)*	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GTC GTG ACG CAG CCG CC	108
OL2S (HuVL2B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG TCT GCC CTG ACT CAG CC	109
OL3S (HuVL3A-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG TCC TAT GWG CTG ACT CAG CCA CC	110
OL4S (HuVL3B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG TCT TCT GAG CTG ACT CAG GAC CC	111

ES 2 608 321 T3

Nombre del cebador	Secuencia de nucleótidos del cebador	SEQ ID NO
OL5S (HuVL4B-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG CYT GTG CTG ACT CAA TC	112
OL6S (HuVL5-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG GCT GTG CTG ACT CAG CCG TC	113
OL7S (HuVL6-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG AAT TTT ATG CTG ACT CAG CCC CA	114
OL8S (HuVL7/8-SAL)	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG RCT GTG GTG ACY CAG GAG CC	115
OL9S (HuVL9-SAL)#	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CWG CCT GTG CTG ACT CAG CCM CC	116
OL9S (HuVL10-SAL)#	TGA GCA CAC AGG TCG ACG CAG GCA GGG CTG ACT CAG	117
OJL1 (HuJL1-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC TAG GAC GGT GAC CTT GGT CCC	118
OJL2 (HuJL2/3-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC TAG GAC GGT CAG CTT GGT CCC	119
OJL3 (HuJL7-NOT)	GAG TCA TTC TCG ACT TGC GGC CGC ACC GAG GAC GGT CAG CTG GGT GCC	120
OH1S (HuVH1B-SFI)+	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG RTG CAG CTG GTG CAR TCT GG	121
OH1S (HuVH1C-SFI)+	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC SAG GTC CAG CTG GTR CAG TCT GG	122
OH2S (HuVH2B-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG RTC ACC TTG AAG GAG TCT GG	123
OH3S (HuVH3A-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC GAG GTG CAG CTG GTG GAG	124
OH4S (HuVH3C-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC GAG GTG CAG CTG GTG GAG WCY GG	125
OH5S (HuVH4B-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG GTG CAG CTA CAG CAG TGG GG	126
OH6S (HuVH4C-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG STG CAG CTG CAG GAG TCS GG	127
OH7S (HuVH6A-SFI)	GTC CTC GCA ACT GCG GCC CAG CCG GCC ATG GCC CAG GTA CAG CTG CAG CAG TCA GG	128
OJH1 (HuJH1/2-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC RGT GAC CAG GGT GCC	129
OJH2 (HuJH3-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CAT TGT CCC	130
OJH3 (HuJH4/5-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CAG GGT TCC	131
OJH4 (HuJH6-XHO)	GAG TCA TTC TCG ACT CGA GAC GGT GAC CGT GGT CCC	132
* Mezcla a una relación 1:1:1 # Mezcla a una relación 1:1 + Mezcla a una relación 1:1		

Tabla 3. Resumen de segunda ronda de amplificación de regiones VL

Molde	Cebador 5'	Cebador 3'	Producto	Aportación en PK/PL (%)	Agrupación	Aportación en VL (%)
K1	OK1S	OJK1	K1J1	25	PK1	30
	OK1S	OJK2	K1J2	25		
	OK1S	OJK3	K1J3	10		
	OK1S	OJK4	K1J4	25		
	OK1S	OJK5	K1J5	15		
K2	OK2S	OJK1	K2J1	25	PK2	4
	OK2S	OJK2	K2J2	25		
	OK2S	OJK3	K2J3	10		
	OK2S	OJK4	K2J4	25		
	OK2S	OJK5	K2J5	15		
K3	OK3S	OJK1	K3J1	25	PK3	1
	OK3S	OJK2	K3J2	25		
	OK3S	OJK3	K3J3	10		
	OK3S	OJK4	K3J4	25		
	OK3S	OJK5	K3J5	15		
K4	OK4S	OJK1	K4 J1	25	PK4	19
	OK4S	OJK2	K4 J2	25		
	OK4S	OJK3	K4 J3	10		
	OK4S	OJK4	K4 J4	25		
	OK4S	OJK5	K4 J5	15		
K5	OK5S	OJK1	K5J1	25	PK5	1
	OK5S	OJK2	K5J2	25		
	OK5S	OJK3	K5J3	10		
	OK5S	OJK4	K5J4	25		
	OK5S	OJK5	K5J5	15		
K6	OK6S	OJK1	K6J1	25	PK6	5
	OK6S	OJK2	K6J2	25		
	OK6S	OJK3	K6J3	10		
	OK6S	OJK4	K6J4	25		
	OK6S	OJK5	K6J5	15		
L1	OL1S	OJL1	L1J1	30	PL1	14
	OL1S	OJL2	L1J2	60		
	OL1S	OJL3	L1J3	10		
L2	OL2S	OJL1	L2J1	30	PL2	10
	OL2S	OJL2	L2J2	60		
	OL2S	OJL3	L2J3	10		
L3	OL3S	OJL1	L3J1	30	PL3	10
	OL3S	OJL2	L3J2	60		
	OL3S	OJL3	L3J3	10		
L4	OL4S	OJL1	L4J1	30	PL4	1
	OL4S	OJL2	L4J2	60		
	OL4S	OJL3	L4J3	10		
L5	OL5S	OJL1	L5J1	30	PL5	1
	OL5S	OJL2	L5J2	60		
	OL5S	OJL3	L5J3	10		
L6	OL6S	OJL1	L6J1	30	PL6	1
	OL6S	OJL2	L6J2	60		
	OL6S	OJL3	L6J3	10		
L7	OL7S	OJL1	L7J1	30	PL7	1
	OL7S	OJL2	L7J2	60		
	OL7S	OJL3	L7J3	10		

Molde	Cebador 5'	Cebador 3'	Producto	Aportación en PK/PL (%)	Agrupación	Aportación en VL (%)
L8	OL8S	OJL1	L8J1	30	PL8	1
	OL8S	OJL2	L8J2	60		
	OL8S	OJL3	L8J3	10		
L9	OL9S	OJL1	L9J1	30	PL9	1
	OL9S	OJL2	L9J2	60		
	OL9S	OJL3	L9J3	10		
					VL	100%

Tabla 4. Resumen de segunda ronda de amplificación de regiones VH

Molde	Cebador 5'	Cebador 3'	Producto	Aportación en PK/PL (%)	Agrupación	Aportación en VH (%)
H1	OH1S	OJH1	H1J1	10	PH1	25
	OH1S	OJH2	H1J2	10		
	OH1S	OJH3	H1J3	60		
	OH1S	OJH4	H1J4	20		
H2	OH2S	OJH1	H2J1	10	PH2	2
	OH2S	OJH2	H2J2	10		
	OH2S	OJH3	H2J3	60		
	OH2S	OJH4	H2J4	20		
H3	OH3S	OJH1	H3J1	10	PH3	25
	OH3S	OJH2	H3J2	10		
	OH3S	OJH3	H3J3	60		
	OH3S	OJH4	H3J4	20		
H4	OH4S	OJH1	H4J1	10	PH4	25
	OH4S	OJH2	H4 J2	10		
	OH4S	OJH3	H4 J3	60		
	OH4S	OJH4	H4 J4	20		
H5	OH5S	OJH1	H5J1	10	PH5	2
	OH5S	OJH2	H5J2	10		
	OH5S	OJH3	H5J3	60		
	OH5S	OJH4	H5J4	20		
H6	OH6S	OJH1	H6J1	10	PH6	20
	OH6S	OJH2	H6J2	10		
	OH6S	OJH3	H6J3	60		
	OH6S	OJH4	H6J4	20		
H7	OH7S	OJH1	H7J1	10	PH7	1
	OH7S	OJH2	H7J2	10		
	OH7S	OJH3	H7J3	60		
	OH7S	OJH4	H7J4	20		
					VH	100 %

5 Tabla 5: Actividad de unión cruzada de anticuerpos de fago monocatenarios precipitados con PEG/NaCl y esterilizados por filtración para HA de diferentes subtipos, medida por ELISA. + = unión (>4x fondo); +/- = unión baja (2-4x fondo) - = unión no detectable; H1 = HA de gripe A subtipo H1; H3 = HA de gripe A subtipo H3; H5 = HA de gripe A subtipo H5; H7 = HA de gripe A subtipo H7; B= HA de virus de la gripe B; Rabia=glucoproteína del virus de la rabia (control negativo).

	Fago ELISA midi					
	H1	H3	H5	H7	B	Rabia
sc09-003	+	+	+	+	+	-
sc09-004	+	+	+	+	+	-
sc09-005	+	+	+	+	+	-
sc09-006	+	+	+	+	+	-
sc09-007	+	+/-	+	+	+/-	-
sc09-008	+	+/-	+	+	+/-	-
sc09-009	+	+/-	+	+	+/-	-
sc09-010	+	+	+	+	+/-	-

	Fago ELISA midi					
	H1	H3	H5	H7	B	Rabia
sc09-011	+	+	+	+	+	-
sc09-012	+	+	+	+	-	-
sc09-029	+	+/-	+	+	-	-
sc09-030	+	+	+	+	+	-
sc09-031	+	+/-	+	+	-	-
sc09-112	+	+	+	+	+	-
sc09-113	+	+	+	+	+	-
sc09-114	+	+	+	+	+	-

Tabla 6. Análisis FACS de anticuerpos de fago precipitados con PEG/NaCl y esterilizados por filtración. + = unión (>4x fondo); +/- = unión baja (2-4x fondo) - = unión no detectable; PER.C6=células PER.C6 no transfectadas (control); mH1, mH3, mH7= HA unida a membrana de los subtipos H1, H3 y H7, respectivamente.

	Fago Facs midi (% UL clasificado)			
	PerC6	mH1	mH3	mH7
sc09-003	-	+	+	+
sc09-004	-	+	+	+
sc09-005	-	+	+	+
sc09-006	-	+	+	+
sc09-007	-	+	+/-	+
sc09-008	-	+	+/-	+
sc09-009	-	+	+/-	+
sc09-010	-	+	+	+
sc09-011	-	+	+	+
sc09-012	-	+	+	+
sc09-029	-	+	-	+/-
sc09-030	-	+	+	+
sc09-031	-	+	-	+/-
sc09-112	-	+	+	+
sc09-113	-	+	+	+
sc09-114	-	+	+	+

Tabla 7. Datos de las regiones CDR de las inmunoglobulinas específicas para HA. La SEQ ID NO se proporciona entre paréntesis.

IgG n.º	VH	CDR1 de HC (133)	CDR2 de HC (134)	CDR3 de HC (135)	VL	CDR1 de LC (136)	CDR2 de LC (137)	CDR3 de LC (138)
CR9003	IGHV1-69*06	GGTSNIFG (133)	ISPIFGST (134)	ARHGNYFYSGMDL (135)	IGLV3-21*02	NVGNS (136)	DDR (137)	QVWDSSSDHRV (138)
CR9004	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	VSPIFGST (140)	ARHGNYYYNSGMDV (141)	IGLV1-44*01	DSNIGRRS (142)	SND (143)	AAWDDSLKGAV (144)
CR9005	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYSGMDL (145)	IGLV2-14*01	SSDVGGYN Y (146)	DVS (174)	CSYAGSAKGV (147)
CR9006	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYSGMDL (145)	IGLV3-21*02	NIGSKT (148)	GDS (149)	QVWDSSSDHPGAV (150)
CR9007	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGSA (151)	ARHGNYYYSGMDV (152)	IGLV1-44*01	SSNIGSNT (153)	GDD (154)	ATWDDSLNGHV (155)
CR9008	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYSGMDV (152)	IGLV3-21*02	NIGSKT (148)	GDS (149)	QVWDSSSDHPGAV (150)
CR9009	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYSGMDV (152)	IGKV1-12*01	QHISSW (156)	SAS (157)	QQANSFPLT (158)
CR9010	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYSGMDV (152)	IGLV3-21*02	NIGSKT (148)	VDS (159)	QVWDNSDHPGAV (160)
CR9011	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGSA (151)	ARHGNYYYSGTDV (161)	IGLV1-44*01	DSNIGRRS (142)	SND (143)	AAWDDSLKGAV (144)
CR9012	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGSA (151)	ARHGTYYYSGMDV (162)	IGLV1-40*02	SSNIGAGYD (163)	GNN (164)	QSYDQNLSEGV (165)
CR9029	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYSGMDV (152)	IGKV3-20*01	QSVSSY (166)	GAS (167)	QQYGSSPFA (168)
CR9030	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYSGMDV (152)	IGLV3-21*02	NIGSKS (169)	GDS (149)	QVWDSSSDHPGAV (150)
CR9031	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYNSGMDV (141)	IGLV1-40*01	SSNIGAGYD (163)	DNN (169)	QSYDGLSASPV (170)
CR9112	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYSGMDV (152)	IGLV1-40*01	SANIGAGYD (171)	GNN (164)	QSYDSSLGAL (172)
CR9113	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYSGMDL (145)	IGLV1-44*01	DSNIGRRS (142)	SND (143)	AAWDASLGPV (173)
CR9114	IGHV1-69*06	GGTSNNYA (139)	ISPIFGST (134)	ARHGNYYYSGMDV (152)	IGLV1-44*01	DSNIGRRS (142)	SND (143)	AAWDDSLKGAV (144)

Tabla 8. Tablas cruzadas de identidad de las secuencias de aminoácidos de los dominios variables de cadena pesada y ligera

A.

Diferencias de aminoácidos en la cadena pesada																
Porcentaje de identidad	SC09-007	SC09-011	SC09-112	SC09-010	SC09-029	SC09-008	SC09-030	SC09-114	SC09-009	SC09-004	SC09-031	SC09-005	SC09-006	SC09-012	SC09-113	SC09-003
	98,4	98,4	98,4	98,4	98,4	98,4	98,4	98,4	98,4	98,4	98,4	98,4	98,4	98,4	98,4	98,4
	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5	97,5
	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9
	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9
	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9
	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9
	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9
	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9
	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9
	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9
	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9
	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9
	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9
	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9	95,9

B.

Diferencias de aminoácidos en la cadena ligera																	
	SC09-011	SC09-114	SC09-004	SC09-113	SC09-007	SC09-012	SC09-112	SC09-031	SC09-005	SC09-006	SC09-008	SC09-030	SC09-010	SC09-003	SC09-009	SC09-029	
Porcentaje de identidad	SC09-011		0	2	7	14	29	26	34	44	47	47	45	52	47	62	64
	SC09-114	100,0		2	7	14	29	26	34	44	47	47	45	52	47	62	64
	SC09-004	98,2	98,2		5	16	27	24	32	42	49	49	47	54	49	62	64
	SC09-113	93,6	93,6	95,5		17	25	22	29	41	46	46	44	51	47	62	64
	SC09-007	87,3	87,3	85,5	84,6		26	25	32	42	41	41	41	47	43	61	61
	SC09-012	73,9	73,9	75,7	77,5	76,6		9	13	39	48	48	47	52	48	61	62
	SC09-112	76,6	76,6	78,4	80,2	77,5	91,9		13	37	45	45	44	51	45	60	60
	SC09-031	69,9	69,9	71,7	74,3	71,7	88,5	88,5		37	50	50	49	53	46	60	62
	SC09-005	60,4	60,4	62,2	63,1	62,2	64,9	66,7	67,3		55	55	54	56	46	64	63
	SC09-006	58,0	58,0	56,3	58,9	63,4	57,5	60,2	55,8	51,3		0	3	7	17	64	61
	SC09-008	58,0	58,0	56,3	58,9	63,4	57,5	60,2	55,8	51,3	100,0		3	7	17	64	61
	SC09-030	59,8	59,8	58,0	60,7	63,4	58,4	61,1	56,6	52,2	97,3	97,3		10	14	62	59
	SC09-010	53,6	53,6	51,8	54,5	58,0	54,0	54,9	53,1	50,4	93,6	93,6	90,9		22	67	67
	SC09-003	57,7	57,7	55,9	57,7	61,3	57,1	59,8	59,3	58,6	84,6	84,6	87,3	80,0		62	56
SC09-009	45,1	45,1	45,1	45,1	46,0	46,5	47,4	47,4	43,4	42,9	42,9	44,6	40,2	44,1		34	
SC09-029	43,4	43,4	43,4	43,4	46,0	45,6	47,4	45,6	44,3	45,5	45,5	47,3	40,2	49,6	68,2		

Tabla 9. Reactividad de unión cruzada de las IgG, medida mediante ELISA y FACS. H1=HA H1 soluble recombinante de A/New Caledonia/20/1999; H3= HA H3 soluble recombinante de A/Wisconsin/67/2005; H5= HA H5 soluble recombinante de A/Vietnam/1203/04; H7= HA H7 soluble recombinante de A/Netherlands/219/2003; H9= HA H9 soluble recombinante de A/Hong Kong/1073/99; B= HA soluble recombinante de gripe B B/Ohio/01/05; Rabia = glucoproteína de la rabia; PER.C6=células PER.C6 no transfectadas (control); mH1=HA H1 de A/New Caledonia/20/1999 expresada en células PER.C6; mH3= HA H3 de A/Wisconsin/67/2005 expresada en células PER.C6; mH7= HA H7 de A/Netherlands/219/2003 expresada en células PER.C6; ND=no efectuado. + = unión (>10x fondo); +/- = unión baja (2-10x fondo) - = unión no detectable.

	Elisa de IgG	Facs de IgG									
	H1	H3	H5	H7	H9	B	Rabia	PerC6	mH1	mH3	mH7
CR9005	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
CR9030	+	+	+	+	+	+/-	-	-	+	+	+
CR9112	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
CR9113	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
CR9114	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	+
CR4098	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-

Tabla 10. Actividad de neutralización cruzada de las IgG; Los títulos (indicados en g/ml) son valores de la media geométrica de la CI50 determinada mediante el método de Spearman-Kärber de experimentos al menos duplicados; >100 = no neutralizante a la concentración máxima ensayada (100 µg/ml).

	Subtipo	Cepa	CR9005	CR9112	CR9113	CR9114
Grupo I	H1	A/WSN/33	1,1	0,9	1,1	1,1
		A/New Caledonia/20/99	2,6	1,9	4,4	3,7
		A/Solomon Islands/3/2006	1,4	1,3	2,2	1,8
		A/Brisbane/59/2007	3,4	2	3,1	2,6
		A/California/7/2009	0,7	0,5	0,3	0,3
	H2	A/Env/MPU3156/05	8,8	6,3	8,8	8,8
	H5	A/Hong Kong/156/97	0,8	0,7	0,9	0,4
		A/EW/MPF461/07	10,5	10,5	8,8	10,5
	H6	A/EW/MPD411/07	29,7	10,5	17,7	10,5
	H8	A/EW/MPH571/08	8,8	8,8	8,8	8,8
	H9	A/Hong Kong/1073/99	6,3	3,7	3,7	4,4
		A/Ck/HK/SSP176/09	4,4	4,4	6,3	6,3
Grupo II	H3	A/Hong Kong/1 /68	42	27,6	22,3	19
		A/Johannesburg/33/94	17,7	13,8	32,4	21,9
		A/Panama/2007/1999	28,2	47,5	47,5	39,9
		A/Hiroshima/52/2005	22,9	10,5	13,6	12,5
		A/Wisconsin/67/2005	35,4	29,7	35,4	32,4
		A/Brisbane/10/2007	11,2	5,6	9,4	5,6
	H4	A/WF/MPA 892/06	1,2	0,8	1,3	0,8
	H7	A/Mallard/Netherlands/12/2000	9,6	6,3	6,3	4,8
		A/New York/107/2003	> 100	> 100	> 100	> 100
	H10	A/Chick/Germany/N/49	29,6	26,5	19,8	15,7
	H14	A/Mallard/Astrakhan/263/1982	> 100	> 100	> 100	> 100

SECUENCIAS

>SC09-003 ADN de VH (SEQ ID NO: 1)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGGCTGGGTCCTCGGTGAAAGTCTCTGCAAGTC
 TTCTGGAGGCACCTCCAACAACCTTGGTATCAGCTGGGTACGACAGGCCCTGGCCAAGGCCTTGAGTGGA
 TGGGCGGGATCAGCCCAATCTTGGTTCGACAGTCTACGCACAGAAATTCAGGGCAGAGTCACTATTTC
 GCGGACATATTTTACACACTGCCTACATGGAGATGAACAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGCTATTT
 CTGTGCGAGGCACGGAAATTATATTTCTACTCCGTATGGACCTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC

>SC09-003 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 2)

EVQLVESGAIEVKKAGSSVKVSKSSGGTSNNFGISWVRQAPGQGLEWMGGISPIFGSTVYAQKFQGRVTIS
ADIFSHTAYMEMNSLTSEDNAVYFCARHGNYYFYSGMDLWGQGTTVT

5 >SC09-003 ADN de VL (SEQ ID NO: 3)

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGACAGACGGCCACGATTTCTGTGGGGG
AGACAACGTTGGAAGTAACAGTGTGCACTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCTGTCT
ATGATGATCGCGACCGACCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGAACACGGCCACC
CTGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTGAGGTGTGGGATAGTAGTAGTGA
TCATCGAGTCTTCGGAACCTGGGACCAAGGTCACCGTCCTAG

>SC09-003 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 4)

10 SYVLTQPPSVSVAPGQTATISCGGDNVGSNSVHWYQQKPGQAPVPLVVYDDRRPSGIPERFSGSNSGNAT
LTISRVEAGDEADYYCQVWDSSDHRVFGTGKVTVL

>SC09-004 ADN de VH (SEQ ID NO: 5)

15 CAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAAGAAGCCTGGGTCTCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGCGGCACCTCCAATAACTATGCCATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGACTGGA
TGGCGGGGTCAGCCCTATCTTTGGTTTCGACAGCCTACGCACAGAAGTTCAGGGCAGAGTCACTATTTC
GCGGACATATTTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGTCTGACATCTGAGGACACGGCCGTCTATTA
TTGTGCGAGACACGGGAATTATTATTACAACCTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC

>SC09-004 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 6)

20 QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKSSGGTSNNYAIISWVRQAPGQGLDWMGGVSPIFGSTAYAQKFQGRVTIS
ADIFSNAYMELNSLTSEDNAVYYCARHGNYYNYSMDVWGQGTTVT

>SC09-004 ADN de VL (SEQ ID NO: 7)

25 CAGTCTGTGCTGACGCAGCCGCCCGCAGTGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCGTGTCTCTGG
AAGTGATTCCAACATCGGGAGAAGAAGTGTAACTGGTACCAGCAGTTCAGGAACGGCCCCCAACTCC
TCATCTATAGTAACGATCAGCGGCCCTCAGTGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCCGGCACCTCA
GCCTCCCTGGCCATCAGTGGGTCCAGTCTGAAGATGAGGCCGAATATTACTGTGCAGCATGGGATGACAG
CCTGAAGGGGGCTGTGTTTCGGAGGAGGCACCCAGCTGACCGTCTCTCG

>SC09-004 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 8)

30 QSVLTQPPAVSGTTPGQRTVISCSSGSDSNIGRRSVNHWYQQFPGTAPKLLIYSNDQRPSVVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLQSEDAEYYCAAWDDSLKGAVFGGGTQLTVL

>SC09-005 ADN de VH (SEQ ID NO: 9)

35 CAGGTGCAGCTGGTGAATCTGGGGCTGAGGTCAAGAGGCCCTGGGTCTCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGAGGCACCTCCAATAACTATGCTATTAGTTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGACTGGA
TGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTTCGACAGTCTACGCACAGAAATTCAGGGCAGAGTCACTATTTC
GCGGACATATTTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGTATATT
CTGTGCGAGGCACGGGAATATTATTACTACTCCGGTATGGACCTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC

>SC09-005 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 10)

35 QVQLVQSGAEVKRPGSSVKVSKSSGGTSNNYAIISWVRQAPGQGLDWMGGISPIFGSTVYAQKFQGRVTIS
ADIFSNAYMELNSLTSEDNAVYFCARHGNYYYSMDLWGQGTTVT

>SC09-005 ADN de VL (SEQ ID NO: 11)

40 CAGTCTGCCCTGACTCAGCCTGCCTCCGTGTCTGGGTCTCTGGACAGTCGATCACCATCTCCTGCACTGG
AACCAGCAGTGACGTGGTGGTTATAACTATGTCTCCTGGTACCAACAACACCCAGGCAAAGCCCCCAAC
TCCTGATTTTGTATGTCAGTATCGGCCCTCAGGGGTTTCTGATCGCTTCTCTGGCTCCAAGTCTGCGGAC
ACGGCCTCCCTGACCATCTCTGGACTCCAGGCTCAGGACGAGGCTGATTATTACTGCTGCTCATATGCAGG
TAGTGCCAAGGGCGTCTTCGGAACCTGGGACCAAGGTCACCGTCCTAG

>SC09-005 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 12)

QSALTQPASVSGSPGQSITISCTGTSSDVGGYNYVSWYQQHPGKAPKLLIFDVSDRPSGVSDRFSGSKSAD
TASLTISGLQAQDEADYYCCSYAGSAKGVFGTGKVTVL

>SC09-006 ADN de VH (SEQ ID NO: 13)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAGGCCTGGGTCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGAGGCACCTCCAATAACTATGCTATTAGTTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGACTGGA
TGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCTACGCACAGAAATCCAGGGCAGAGTCACTATTTCC
GCGGACATATTTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGTATATTT
CTGTGCGAGGCACGGGAATTATTATTACTACTCCGGTATGGACCTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACC

5 >SC09-006 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 14)

EVQLVESGAEVKRPGSSSVKVSCKSSGGTSNNYAIWSVRQAPGQGLDWMGGISPIFGSTVYAQKFQGRVTIS
ADIFSN TAYMELNSLTSED TAVYFCARHGNYYYYS GMDLWGQGT TVT

>SC09-006 ADN de VL (SEQ ID NO: 15)

10

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTGCTAGTGGCCCCAGGACAGACGGCCAGGATTACCTGTGGGGG
AAACAACATTGGAAGTAAACTGTGCATTGGTACCAGCAGAACTCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCTGTCT
ATGGTGATAGCAGCCGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGACCACGGCCACC
CTGACCATCAGCAGGGTGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTGCTAGGTGTGGGATAGTAGTAGTGA
TCATCCCGGTGCTGTGTTCGGAGGAGGCACCCAGCTGACCGTCTCTCG

>SC09-006 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 16)

15

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQQNSGQAPVLVYGDSDRPSGIPERFSGSNSGTTAT
LTISRVEAGDEADYVCQVWDSSDHPGAVFGGGTQLTVL

>SC09-007 ADN de VH (SEQ ID NO: 17)

20

CAGGTGCAGCTGGTGCATCTGGAGCTGAGGTCAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGAGGCACCTCCAATAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGACTGGA
TGGGAGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCAGCAGCCTACGCACAGAAATCCAGGGCAGAGTCACTATTACC
GCGGACATATTTTCGAACACAGTGTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGTGTATTA
CTGTGCGAGACACGGGAATTATTATTACTACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG
TCTCGAGC

>SC09-007 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 18)

25

QVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKSSGGTSNNYAIWSVRQAPGQGLDWMGGISPIFGSAAYAQKFQGRVTIT
ADIFSN TVYMELNSLTSED TAVYYCARHGNYYYYS GMDVWGQGT TVTVSS

>SC09-007 ADN de VL (SEQ ID NO: 19)

30

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCAGCGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCTTGTCTTGG
AAGCAGCTCCAACATCGGAAGTAATACTGTAAACTGGTACCAGCAGGTCCCCGGAACGGCCCCCAAACCTCC
TCATCTATGGTGATGATCAGCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACCTCA
GCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAACATGGGATGACAG
CCTGAATGGTCATGTGTTCGGAGGAGGCACCCAGCTGACCGTCTCTCG

>SC09-007 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 20)

SYVLTQPPSASGTPGQRVITISGSSSNIGSNTVNWYQQVPGTAPKLLIYGDDQRPSPGVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLQSEADYCATWDDSLNGHVFGGGTQLTVL

>SC09-008 ADN de VH (SEQ ID NO: 21)

35

GAGGTCCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAGAGTCTCCTGTAAGTC
TTCTGGAGGCACCTCCAATAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGACTGGA
TGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCCTACGCACAGAAATCCAGGGCAGAGTCACTATTTCC
GCGGACATATTTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGTATATTT
CTGTGCGAGGCACGGGAATTATTATTACTACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG
TCTCGAGC

>SC09-008 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 22)

40

EVQLVQSGAEVKKPGSSSVRVSKSSGGTSNNYAIWSVRQAPGQGLDWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTIS
ADIFSN TAYMELNSLTSED TAVYFCARHGNYYYYS GMDVWGQGT TVTVSS

>SC09-008 ADN de VL (SEQ ID NO: 23)

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGACAGACGGCCAGGATTACCTGTGGGGG
AAACAACATTGGAAGTAAACTGTGCATTGGTACCAGCAGAAGTCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCTGTCT
ATGGTGATAGCGACCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGGACCACGGCCACC
CTGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTGTGGGATAGTAGTAGTGA
TCATCCCGGTGCTGTGTTTCGGAGGAGGCACCCAGCTGACCGTCCTCG

5 >SC09-008 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 24)

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQQNSGQAPVLVVYGDSDRPSGIPERFSGSNSGTAT
LTISRVEAGDEADYYCQVWDSSSDHPGAVFGGGTQLTVL

10 >SC09-009 ADN de VH (SEQ ID NO: 25)

CAGGTGCAGCTGGTGCAATCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGAGGCACCTCCAATAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGACTGGA
TGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCCTACGCACAGAAATTCAGGGCAGAGTCACATTTTCC
GCGGACATATTTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGGCATCTGAGGACACGGCCGTATATTT
CTGTGCGAGGCACGGGAATTATATTACTACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG
TCTCGAGC

>SC09-009 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 26)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGLDWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTIS
ADIFSNLAYMELNSLAIEDTAVYFCARHGNYYYYSGMDVWGQGTITVTVSS

15 >SC09-009 ADN de VL (SEQ ID NO: 27)

GACATCCAGATGACCCAGTCTCCATCTTCCGTGTCTGCATCTGTAGGAGACAGAGTCACCATCACTTGTCTG
GGCGAGTCAGCATATTAGCAGTTGGTTAGCCTGGTATCAGCAGAAGCCAGGGAAAGGCCCTCAGCTCCTGA
TCTATTCTGCATCCCGTTTGCAAGTGGGGTCCCATCAAGGTTTCAGCGGCAGTGGATCTGGGACAGATTTT
ACTCTCACCATCAGCAGCCTGCAGCCTGAAGATTTTGCAACTTACTATTGTCAACAGGCTAACAGTTTCCC
CCTCACTTTTCGGCCCTGGGACCAAAGTGGATATCAAAC

20 >SC09-009 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 28)

DIQMTQSPSSVSASVGDRTITCRASQHISSWLAWYQQKPGKGPQLLIYSASRLQSGVPSRFSGSGSGTDF
TLTISSLQPEDFATYYCQQANSFPLTFPGTKVDIK

25 >SC09-010 ADN de VH (SEQ ID NO: 29)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGAGGCACCTCCAATAATTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGACTGGA
TGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCCTACGCACAGAAATTCAGGGCAGAGTCACATTTTCC
GCGGACATATTTTCCAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGTATATTA
CTGTGCGAGGCACGGGAATTATATTACTACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG
TCTCGAGC

30 >SC09-010 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 30)

EVQLVESGAIEVKKPGSSVKVSKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGLDWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTIS
ADIFSNLAYMELNSLTSEDVAVYYCARHGNYYYYSGMDVWGQGTITVTVSS

>SC09-010 ADN de VL (SEQ ID NO: 31)

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCAGTGGCCCCAGGACAGACGGCCAGGATTACCTGTGGGGG
AAACAACATYGAAGTAAACTGTGCATTGGTACCAGCAGAAGTCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCTGTCT
TTGTTGATAGCGACCGTCCCTCAGGGATCCATGAGCGATTCTGTGGCTCCAAGTCTGGGTCCACGGCCACC
CTGACCATCAGCAGCTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCAGGTGTGGGATAGTAATAGCGA
TCATCCCGGTGCTGTGTTTCGGAGGAGGCACCCAGCTGACCGTCCTCG

35 >SC09-010 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 32)

SYVLTQPPSVSVAPGQTARITCGGNNIGSKTVHWYQQNSGQAPVLVVFVDSDRPSGIHERFCGSNSGSTAT
LTISSVEAGDEADYYCQVWDSSSDHPGAVFGGGTQLTVL

>SC09-011 ADN de VH (SEQ ID NO: 33)

GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGAGGCACCTCCAATAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGGCAGGCCCTGGACAAGGCCTTGACTGGA
TGGGAGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTTCAGCAGCTACGCACAGAAGTCCAGGGCAGAGTCACTATTACC
GCGGACATATTTTCGAACACAGTGTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGTGTATTA
CTGTGCGAGACACGGGAATTATTATTACTACTCCGGTACGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG
TCTCGAGC

5 >SC09-011 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 34)

EVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGLDWMGGISPIFGSAAYAQKFQGRVTIT
ADIFSNVTYMEINSLTSEDVAVYYCARHGNYYYYSGTDVWGQGTITVTVSS

>SC09-011 ADN de VL (SEQ ID NO: 35)

10

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCGAGTGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCGTGTCTTGG
AAGTGATTCCAACATCGGGAGAAGAAGTGTAACTGGTACCAGCAGTTCAGGAACGGCCCCAACTCC
TCATCTATAGTAACGATCAGCGGCCCTCAGTGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCCGGCACCTCA
GCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAAGATGAGGCCGAATATTACTGTGCAGCATGGGATGACAG
CCTGAAGGGGGCTGTGTTTCGGAGGAGGCACCCAGCTGACCGTCTCTCG

>SC09-011 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 36)

15

SYVLTQPPAVSGTPGQRTVISCSGSDSNIGRRSVNWWYQFPQTAPKLLIYSNDQRPSVVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLQSEDEAEYYCAAWDDSLKGAVFGGGTQLTLV

>SC09-012 ADN de VH (SEQ ID NO: 37)

GAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAGGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGAGGCACCTCCAATAATATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGACTGGA
TGGGAGGGATCAGCCCTATTTTGGTTTCAGCAGCTACGCACAGAAGTCCAGGGCAGAGTCACTATTACC
GCGGACATATTTTCGAACACAGTGTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGTGTATTA
CTGTGCGAGACACGGGACTTATTATTACTACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG
TCTCGAGC

20

>SC09-012 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 38)

EVQLVQSGAEVKKPGSSSVKVSCKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGLDWMGGISPIFGSAVYAQKFQGRVTIT
ADIFSNVTYMEINSLTSEDVAVYYCARHGTYYYYSGMDVWGQGTITVTVSS

25

>SC09-012 ADN de VL (SEQ ID NO: 39)

CAGTCTGTCTGTGACGACGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTCACCATCTCCTGCACTGG
GAGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGTTATGATGTACACTGGTACCAGCAGCTTCCAGGGACAGCCCCAAAC
TCCTCATCTATGGTAACAACAATCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACC
TCAGCCTCCTGGCCATCACTGGGCTCCAGGTTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCTATGACCA
GAACCTGAGTGAGGGGTCTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTAG

>SC09-012 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 40)

30

QSVVTQPPSVSGAPGQRTVISCTGSSSNIGAGYDVHWYQQLPGTAPKLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGT
SASLAITGLQVEDEADYYCQSYDQNLSEGVFGGGTKLTLV

>SC09-029 ADN de VH (SEQ ID NO: 41)

GAGGTGCAGCTGGTGGAGTCCGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGAGGCACCTCCAATAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGACTGGA
TGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTTCAGCAGCTACGCACAGAAGTCCAGGGCAGAGTCACTATTTC
GCGGACATATTTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGTATATTA
CTGTGCGAGGCACGGGAATTATTATTACTACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG
TCTCGAGC

35

>SC09-029 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 42)

EVQLVESGAIEVKKPGSSSVKVSCKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGLDWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTIS
ADIFSNVTYMEINSLTSEDVAVYYCARHGNYYYYSGMDVWGQGTITVTVSS

40

>SC09-029 ADN de VL (SEQ ID NO: 43)

GAAATTGTGATGACGCAGTCTCCAGGCACCTGTCTTTGTCTCCTGGGGAAAGAGGCACCCTCTCCTGCAG
GGCCAGTCAGAGTGTTAGCAGCTACTTAGCCTGGTACCAACAGAAACCTGGCCAGGCTCCCAGGCTCCTCA
TCTATGGTGCATCCACCAGGGCCACTGGCATCCCAGACAGGTTCACTGGCAGTGGGTCTGGGACAGACTTC
ACTCTCACCATCAGCAGACTGGAGCCTGAAGATTTTGCAGTGTATTACTGTCAGCAGTATGGGAGCTCACC
ATTGCTTTTCGGCCCTGGGACCAAGGTGGAGATCAAA

5 >SC09-029 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 44)

EIVMTQSPGTLSPGERGTLSCRASQSVSSYLAWYQQKPGQAPRLLIYGASTRATGIPDRFTGSGSGTDF
TLTISRLEPEDFAVYYCQQYGSSPFAFGPGTKVEIK

10 >SC09-030 ADN de VH (SEQ ID NO: 45)

CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGAGGCACCTCCAATAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGACTGGA
TGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCCTACGCACAGAAGTCCAGGGCAGAGTCACTATTTC
GCGGACATATTTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGTATATTT
CTGTGCGAGGCACGGGAATTATTATTACTACTCCGGTATGGAGCTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG
TCTCGAGC

>SC09-030 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 46)

QMQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGLDWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTIS
ADIFSNYAMELNSLTSEDYAVYFCARHGNYYYYSGMDVWGQGTITVTVSS

>SC09-030 ADN de VL (SEQ ID NO: 47)

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCTCGGTGTCTAGTGGCCCCAGGACAGACGGCCAGGATTACCTGTGGGGG
AAACAACATTGGAAGTAAAGTGTGCACCTGGTACCAGCAGAAGCCAGGCCAGGCCCTGTGCTGGTCTGTCT
ATGGTGATAGCAGCCGGCCCTCAGGGATCCCTGAGCGATTCTCTGGCTCCAACCTCTGGGACCACGGCCACC
CTGACCATCAGCAGGGTCGAAGCCGGGGATGAGGCCGACTATTACTGTCTAGGTGTGGGATAGTAGTAGTGA
TCATCCCGGTGCTGTGTTCGGAGGAGGCACCCAGCTGACCGTCTCTCG

20 >SC09-030 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 48)

SYVLTPPPSVSVAPGQTARITCGNNIGSKSVHWYQQKPGQAPVLVVGDSRPSGIPERFSGSNSGTTAT
LTISRVEAGDEADYYCQVWDSSDHPGAVFGGGTQLTLVL

25 >SC09-031 ADN de VH (SEQ ID NO: 49)

CAGGTCCAGCTGGTACAGTCTGGGGCTGAGGTGAGAGGCCTGGGTCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGCGGCACCTCCAATAACTATGCCATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGACTGGA
TGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCCTACGCACAGAAGTCCAGGGCAGAGTCACTATTTC
GCGGACATATTTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGTCTGACATCTGAGGACACGGCCGTCTATTA
TTGTGCGAGACACGGGAATTATTATTACAACCTCCGGTATGGAGCTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG
TCTCGAGC

30 >SC09-031 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 50)

QVQLVQSGAEVERPGSSVKVSKSSGGTSNNYAISWVRQAPGQGLDWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTIS
ADIFSNYAMELNSLTSEDYAVYYCARHGNYYNSGMDVWGQGTITVTVSS

35 >SC09-031 ADN de VL (SEQ ID NO: 51)

CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTCACCATCTCCTGCACTGG
GAGCAGCTCCAACATCGGGGCAGGTATGATGTACACTGGTACCAGCAGCTTCCAGAAACAGCCCCCAAAC
TCCTCATTTATGATAACAACAATCGTCCCTCAGGGGTTTCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACT
TCAGCCTCCCTGGCCATCACTGGGTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCTTATGACAG
CGGCCTGAGTGCTTCGCCATTATGTCTTCGAGCTGGGACCAAGGTACACCGTCTCTAG

40 >SC09-031 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 52)

QSVLTQPPSVSGAPGQRTVITSGSSNIGAGYDVHWYQQLPETAPKLLIYDNNRPSGVSDRFSGSKSGT
SASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSGLSASPYPVFGAGTKVTVL

>SC09-112 ADN de VH (SEQ ID NO: 53)

CAGGTGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGAGGCACCTCCAATAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGAAGTGA
TGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCTACGCACAGAAGTCCAGGGCAGAGTCACTATTTCC
GCGGACATATTTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGTATATTA
CTGTGCGAGGCACGGGAATTATTATTACTACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG
TCTCGAGC

5 >SC09-112 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 54)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKSSGGTSNNYAIISWVRQAPGQGLDWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTIS
ADIFSN TAYMELNSLTSED TAVYYCARHGNYYYYSGMDVWGQGT TTVTVSS

>SC09-112 ADN de VL (SEQ ID NO: 55)

CAGTCTGTGTTGACGCAGCCGCCCTCAGTGTCTGGGGCCCCAGGGCAGAGGGTCACCATCTCCTGCACTGG
GAGCAGCGCCAACATCGGGGAGGTATGATGTCCACTGGTACCAGCAGTTTCCAGGAACAGCCCCAAAC
TCCTCATCTATGGTAACAACATCGGCCCTCAGGGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCTGGCACC
TCAGCCTCCCTGGCCATCACTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGCCAGTCTATGACAG
CAGCCTGAGTGGTGC GTTATTTCGGCGGAGGGACCAAGCTGACCGTCTCTAG

>SC09-112 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 56)

QSVLTQPPSVSGAPGQRV TISCTGSSANIGAGYDVHWYQQFPGTAPKLLIYGNNNRPSGVPDRFSGSKSGT
SASLAITGLQAEDEADYYCQSYDSSLSGALFGGGT KLTVL

>SC09-113 ADN de VH (SEQ ID NO: 57)

CAGATGCAGCTGGTGCAGTCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGGCTGGGTCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGAGGCACCTCCAATAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGAAGTGA
TGGGCGGGATCAGTCCAATCTTTGGTTCGACAGCTACGCACAGAAATTCAGGGCAGAGTCACTATTTCC
GCGGACATATTTTCACACACTGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGTATATTT
CTGTGCGAGGCACGGAACTATTATTACTACTCCGGTATGGACCTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG
TCTCGAGC

>SC09-113 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 58)

QMQLVQSGAEVKKAGSSVKVSKSSGGTSNNYAIISWVRQAPGQGLEWMGGISPIFGSTVYAQKFQGRVTIS
ADIFSHTAYMELNSLTSED TAA YFCARHGNYYYYSGMDLWGQGT TTVTVSS

>SC09-113 ADN de VL (SEQ ID NO: 59)

CAGTCTGTGCTGACTCAGCCACCCGAGTGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCGTGTCTCTGG
AAGTGATTCCAACATCGGGAGAAGAAGTGTAACTGGTACCAGCAGTTCCAGGAACGGCCCCAAACTCC
TCATCTATAGTAACGATCAGCGGCCCTCAGTGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCCGGCACCTCA
GCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGGCTGAGGATGAGGCTGATTATTACTGTGCAGCATGGGATGCCAG
CCTGAGTGGTCTGTGTTTCGGAGGAGGCACCCAGCTGACCGTCTCTCG

>SC09-113 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 60)

QSVLTQPPAVSGTPGQRV TISCSGSDSNIGRRSVNHWYQQFPGTAPKLLIYSNDQRPSVVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLQAEDEADYYCAAWDASLSGPVFGGGTQLTVL

>SC09-114 ADN de VH (SEQ ID NO: 61)

CAGGTGCAGCTGGTGCATCTGGGGCTGAGGTCAAGAAGCCTGGGTCTCGGTGAAAGTCTCCTGCAAGTC
TTCTGGAGGCACCTCCAATAACTATGCTATCAGCTGGGTGCGACAGGCCCTGGACAAGGCCTTGAAGTGA
TGGGCGGGATCAGCCCTATCTTTGGTTCGACAGCTACGCACAGAAATTCAGGGCAGAGTCACTATTTCC
GCGGACATATTTTCGAACACAGCCTACATGGAGCTGAACAGCCTGACATCTGAGGACACGGCCGTATATTT
CTGTGCGAGGCACGGGAATTATTATTACTACTCCGGTATGGACGTCTGGGGCCAAGGGACCACGGTCACCG
TCTCGAGC

>SC09-114 PROTEÍNA de VH (SEQ ID NO: 62)

QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKSSGGTSNNYAIISWVRQAPGQGLDWMGGISPIFGSTAYAQKFQGRVTIS
ADIFSN TAYMELNSLTSED TAVYFCARHGNYYYYSGMDVWGQGT TTVTVSS

ES 2 608 321 T3

>SC09-114 ADN de VL (SEQ ID NO: 63)

TCCTATGTGCTGACTCAGCCACCCGCAGTGTCTGGGACCCCCGGGCAGAGGGTCACCATCTCGTGTCTCTGG
AAGTGATTCCAACATCGGGAGAAGAAGTGTAACTGGTACCAGCAGTTCCCAGGAACGGCCCCAACTCC
TCATCTATAGTAACGATCAGCGGCCCTCAGTGGTCCCTGACCGATTCTCTGGCTCCAAGTCCGGCACCTCA
GCCTCCCTGGCCATCAGTGGGCTCCAGTCTGAAGATGAGGCCGAATATTACTGTGCAGCATGGGATGACAG
CCTGAAGGGGGCTGTGTTCCGAGGAGGCACCCAGCTGACCGTCTCTCG

5 >SC09-114 PROTEÍNA de VL (SEQ ID NO: 64)

SYVLTQPPAVSGTTPGQRVITISCSGSDSNIGRRSVNWYQQFPGTAPKLLIYSNDQRPSVVPDRFSGSKSGTS
ASLAISGLQSEDEAEYYCAAWDDSLKGAVFGGGTQLTVL

Vector plg-C911-HCgamma I (SEQ ID NO: 175)

10 tcgacggatc gggagatctc ccgatccct atggtgcaact ctcagtacaa tctgctctga 60
tgccgcataag ttaagccagt atctgctccc tgcttggtgtg ttggagggtcg ctgagtagtg 120
cgcgagcaaa atttaagcta caacaaggca aggcttgacc gacaattgca tgaagaatct 180
gcttaggggtt aggcgttttg cgtgctctcg ctagggtggtc aatattggcc attagccata 240
ttattcattg gttatatagc ataaatcaat attggctatt ggccattgca tacgttgat 300
ccatatcata atatgtacat ttatatggc tcatgtccaa cattaccgcc atgttgacat 360
tgattattga ctagtattta atagtaatca attacggggt cattagttca tagcccatat 420
atggagttcc gcgttacata acttacggta aatggccccg ctggctgacc gcccacacgac 480
ccccgcccat tgacgtcaat aatgacgtat gttcccatag taacgccaat agggactttc 540
cattgacgtc aatgggtgga gtatttacgg taaactgcc acttggcagt acatcaagtg 600
tatcatatgc caagtacgcc cctattgac gtcaatgacg gtaaatggcc cgctggcat 660
tatgcccagt acatgacctt atgggacttt cctacttggc agtacatcta cgtattagtc 720
atcgctatta ccatggtgat gcggttttg cagtacatca atgggcgtgg atagcggttt 780
gactcacggg gatattccaag tctccacccc attgacgtca atgggagttt gttttggcac 840
caaaatcaac gggactttcc aaaatgtcgt aacaactccg cccattgac gcaaattggc 900
ggtaggcgtg tacgggtgga ggtctatata agcagagctc gtttagtgaa ccgtcagatc 960
gcctggagac gccatccacg ctgttttgac ctccatagaa gacaccggga ccgatccagc 1020
ctccgcggcc gggaacggtg cattggaagc tggcctggat atcctgactc tcttaggtag 1080
ccttgagaa gttggtcgtg aggcactggg caggtaagta tcaaggttac aagacagggt 1140
taaggagatc aatagaaact gggcttgctg agacagagaa gactcttgcg tttctgatag 1200
gcacctattg gtcttaactga catccacttt gcctttctct ccacagggtg cactcccag 1260
ttcaattaca gctcgccacc atgggatgga gctgtatcat cctctcttg gtactgctgc 1320
tggcccagcc ggccagtgc cttgaccggt gcaccacttt tgatgatgtt caagctccta 1380
attacactca acatacttca tctatgaggg gggtttacta tctgatgaa attttttagat 1440
cggacactct ttatttaact caggatttat ttcttccatt ttattccta gttacagggt 1500

ES 2 608 321 T3

ttcatactat	taatcatacg	tttggcaacc	ctgtcatacc	ttttaaggat	ggtatattt	1560
ttgtgtccac	agagaaatca	aatgttgtcc	gtggttgggt	ttttggttct	accatgaaca	1620
acaagtacac	gtcgttgatt	attattaaca	attctactaa	tgttgttata	cgagcatgta	1680
actttgaatt	gtgtgacaac	cctttctttg	ctgtttctaa	acccatgggt	acacagacac	1740
atactatgat	attcgataat	gcatttaatt	gcactttcga	gtacatatct	gatgcctttt	1800
cgcttgatgt	ttcagaaaag	tcaggtaatt	ttaaacactt	acgagagttt	gtgttttaaaa	1860
ataaagatgg	gtttctctat	gtttataaag	gctatcaacc	tatagatgta	gttcgtgatc	1920
taccttctgg	ttttaacact	ttgaaaccta	tttttaagtt	gcctcttggg	attaacatta	1980
caaatttttag	agccattctt	acagcctttt	cacctgctca	agacatttgg	ggcacgtcag	2040
ctgcagccta	ttttgttggc	tattttaaagc	caactacatt	tatgctcaag	tatgatgaaa	2100
atggtacaat	cacagatgct	gttgattgtt	ctcaaaatcc	acttgctgaa	ctcaaatgct	2160
ctgttaagag	ccttgagatt	gacaaaaggaa	tttaccagac	ctctaatttc	aggggtgttc	2220
cctcaggaga	tggtgtgaga	ttccctaata	ttacaaactt	gtgtcctttt	ggagagggtt	2280
ttaatgctac	taaattccct	tctgtctatg	catgggagag	aaaaaaaaatt	tctaattgtg	2340
ttgtctgatta	ctctgtgctc	tacaactcaa	catttttttc	aacctttaag	tgctatggcg	2400
tttctgtccac	taagttgaat	gatctttgct	tctccaatgt	ctatgcagat	tctttttag	2460
tcaagggaga	tgatgtaaga	caaatagcgc	caggacaaac	tgggtgttatt	gctgattata	2520
attataaaatt	gccagatgat	ttcatgggtt	gtgtccttgc	ttggaatact	aggaacattg	2580
atgctacttc	aactggtaat	tataattata	aatataggta	tcttagacat	ggcaagctta	2640
ggccttttga	gagagacata	tctaattgtc	cttttctccc	tgatggcaaa	ccttgcacca	2700
cacctgctct	taattgttat	tggccattaa	atgattatgg	tttttacacc	actactggca	2760
ttggctacca	accttacaga	gttgtagtac	tttcttttga	actttttaat	gcaccggcca	2820
cggtttgtgg	accaaata	tccactgacc	ttattaagaa	ccagtgtgtc	aatttttaatt	2880
ttaatggact	cactggtact	ggtgtgttaa	ctccttcttc	aaagagattt	caaccatttc	2940
aacaatttgg	ccgtgatgtt	tctgatttca	ctgattccgt	tcgagatcct	aaaacatctg	3000
aaatattaga	catttcacct	tgctcttttg	ggggtgtaag	tgtaattaca	cctggaacaa	3060
atgcttcatc	tgaagtgtct	gttctatatc	aagatgttaa	ctgcactgat	gtttctacag	3120
caattcatgc	agatcaactc	acaccagctt	ggcgcatata	ttctactgga	aacaatgtat	3180
tccagactca	ggcaggctgt	cttataggag	ctgagcatgt	cgacacttct	tatgagtgcg	3240
acattcctat	tggagctggc	atttgtgcta	gttaccatac	agtttcttta	ttacgtagta	3300
ctagccaaaa	atctattgtg	gcttatacta	tgtcttttag	tgtctgatagt	tcaattgctt	3360
actctaataa	caccattgct	atacctacta	acttttcaat	tagcattact	acagaagtaa	3420
tgctgttttc	tatggctaaa	acctccgtag	attgtaatat	gtacatctgc	ggagattcta	3480
ctgaatgtgc	taatttgcct	ctccaatatg	gtagcttttg	cacacaacta	aatcgtgcac	3540
tctcaggtat	tgtctgtgaa	caggatcgca	acacacgtga	agtgttcgct	caagtcaaac	3600
aaatgtacaa	aacccaact	ttgaaatatt	ttgggtggtt	taatttttca	caaataattac	3660
ctgaccctct	aaagccaact	aagaggtcct	ttattgagga	cttgctcttt	aataagggtga	3720
cactcgctga	tgctggcttc	atgaagcaat	atggcgaaat	cctaggtgat	attaatgcta	3780
gagatctcat	ttgtgcgcag	aagttcaatg	gacttacagt	gttgccacct	ctgctcactg	3840
atgatatgat	tgctgcctac	actgctgctc	tagttaagtg	tactgccact	gctggatgga	3900
catttgggtgc	tggcgctgct	cttcaaatac	cttttgctat	gcaaattggca	tatagggttca	3960
atggcatttg	agttacccaa	aatgttctct	atgagaacca	aaaacaaatc	gccaaccaat	4020
ttaacaaggc	gattagtcaa	attcaagaat	cacttacaac	aacatcaact	gcattgggca	4080
agctgcaaga	cgttgttaac	cagaatgtct	aagcattaaa	cacacttggt	aaacaactta	4140
gctctaattt	tgggtgcaatt	tcaagtgtgc	taaagtatat	cctttcgcga	cttgataaag	4200
tcgaggcgga	ggtacaaatt	gacaggttaa	ttacaggcag	acttcaaagc	cttcaaacct	4260
atgtaacaca	acaactaatc	agggctgctg	aaatcagggc	ttctgcta	cttgctgcta	4320
ctaaaatgtc	tgagtgtgtt	cttggaacat	caaaaagagt	tgacttttgt	ggaaagggtc	4380
accaccttat	gtccttccca	caagcagccc	cgaatgggtg	tgtcttccca	catgtcacgt	4440
atgtgccatc	ccaggagagg	aacttcacca	cagcgccagc	aatttgtcat	gaaggcaaa	4500
catacttccc	tcgtgaaggt	gtttttgtgt	ttaatggcac	ttcttggttt	attacacaga	4560
ggaacttctt	ttctccacaa	ataattacta	cagacaatac	atttgtctca	ggaaattgtg	4620
atgtcgttat	tggcatcatt	aacaacacag	tttatgatcc	tctgcaacct	gagcttgact	4680
cattcaaaga	agagctggac	aagtacttca	aaaatcatat	atcaccagat	gttgattttg	4740
gcgacatttc	aggcattaac	gcttctgtcg	tcaacattca	aaaagaaatt	gaccgcctca	4800
atgaggtcgc	taaaaattta	aatgaatcac	tcattgacct	tcaagaactg	ggaaatatag	4860
agcaatatat	taaatggcct	ctcgacgaac	aaaaactcat	ctcagaagag	gatctgaatg	4920

ES 2 608 321 T3

ctgtgggcca	ggacacgcag	gaggtcatcg	tgggtgccaca	ctccttgccc	tttaaggtgg	4980
tgggtgatctc	agccatcctg	gccctggtgg	tgtctacccat	catctccctt	atcatcctca	5040
tcatgtctttg	gcagaagaag	ccacgttagg	cgcccgctcg	agtgtctagca	ccaagggccc	5100
cagcgtgttc	cccctggccc	ccagcagcaa	gagcaccagc	ggcggcacag	ccgccctggg	5160
ctgcttggtg	aaggactact	tccccgagcc	cgtgaccgtg	agctggaaca	gcggcgcctt	5220
gaccagcggc	gtgcacacct	tccccgccgt	gctgcagagc	agcggcctgt	acagcctgag	5280
cagcgtggtg	accgtgcccc	gcagcagcct	gggcacccag	acctacatct	gcaacgtgaa	5340
ccacaagccc	agcaacacca	aggtggacaa	acgcgtggag	cccaagagct	gcgacaagac	5400
ccacacctgc	ccccctgcc	ctgcccccg	gctgctgggc	ggaccctccg	tgttctgtt	5460
ccccccaag	cccaaggaca	ccctcatgat	cagccggacc	cccagagtga	cctgctggt	5520
ggtggacgtg	agccacgagg	accccagagt	gaagtccaac	tggtagctgg	acggcgtgga	5580
ggtgcacaac	gccaaagacca	agccccggga	ggagcagtag	aacagcacct	accgggtggt	5640
gagcgtgctc	accgtgctgc	accaggactg	gctgaacggc	aaggagtaca	agtgcaaggt	5700
gagcaacaag	gccctgcctg	cccccatcga	gaagaccatc	agcaaggcca	agggccagcc	5760
ccgggagccc	caggtgtaca	ccctgcccc	cagccgggag	gagatgacca	agaacaggt	5820
gtccctcacc	tgtctggtga	agggtcttcta	ccccagcgac	atcgccgtgg	agtgggagag	5880
caacggccag	cccgagaaca	actacaagac	cacccccct	gtgctggaca	gcgacggcag	5940
cttcttctctg	tacagcaagc	tcaccgtgga	caagagccgg	tggcagcagg	gcaacgtgtt	6000
cagctgcagc	gtgatgcacg	aggccctgca	caaccactac	accagaaga	gcctgagcct	6060
gagccccggc	aagtgataat	ctagagggcc	cgtttaaaac	cgctgatcag	cctcgactgt	6120
gccttctagt	tgcagccat	ctgttggttg	cccctcccc	gtgccttctt	tgacctgga	6180
aggtggcact	cccactgtcc	tttcttaata	aatgaggaa	attgcatcgc	attgtctgag	6240
taggtgtcat	tctattctgg	ggggtgggt	ggggcaggac	agcaaggggg	aggattggga	6300
agacaatagc	aggcatgctg	gggatgcggt	gggctctatg	gcttctgagg	cggaaagaac	6360
cagctggggc	tctaggggt	atccccacgc	gccctgtagc	ggcgcattaa	gcgcggcggg	6420
tgtggtggtt	acgcgcagcg	tgaccgctac	acttgccagc	gccctagcgc	ccgctccttt	6480
cgctttcttc	ccttcctttc	tcgccacgtt	cgccggcttt	ccccgtcaag	ctctaaatcg	6540
ggggctccct	ttagggttcc	gatttagtgc	tttacggcac	ctcgacccca	aaaaacttga	6600
ttagggtagt	ggttcacgta	gtgggccatc	gccctgatag	acggtttttc	gccctttgac	6660
ggtggagtc	acgttcttta	atagtggact	ctgtgtccaa	actggaacaa	cactcaacc	6720
tatctcggtc	tattcttttg	atttataagg	gattttgcgc	atttcggcct	attggttaaa	6780
aatgagctg	atttaacaaa	aatttaacgc	gaattaattc	tgtggaatgt	gtgtcagtta	6840
gggtgtggaa	agtccccagg	ctccccagca	ggcagaagta	tgcaaagcat	gcatctcaat	6900
tagtcagcaa	ccaggtgtgg	aaagtcccca	ggctccccag	caggcagaag	tatgcaaagc	6960
atgcatctca	attagtacgc	aaccatagtc	ccgcccctaa	ctccgcccat	cccgccctta	7020
actccgccca	gttcgcgcc	ttctccgcc	catggttgac	taattttttt	tatttatgca	7080
gagcccgag	ccgctctgc	ctctgttgga	agtgaaggag	cttttttgga	cttttttgga	7140
ggcctaggct	tttgcaaaaa	gctcccggga	gcttgatat	ccattttcgg	atctgatcaa	7200
gagacaggat	gaggatcggt	tcgcatgatt	gaacaagatg	gattgcacgc	aggttctccg	7260
gccgcttggg	tggagaggct	attcggctat	gactgggcac	aacagacaat	cggctgctct	7320
gatgccgccg	tgttcggct	gtcagcgag	gggcgcccgg	ttctttttgt	caagaccgac	7380
ctgtccggtg	ccctgaatga	actgcaggac	gaggcagcgc	ggctatcggt	gctggccacg	7440
acgggcgttc	cttgcgagc	tgtgctcgac	gttgctcactg	aagcgggaag	ggactggctg	7500
ctattgggag	aagtgcgggg	gcaggatctc	ctgtcatctc	accttgctcc	tgccgagaaa	7560
gtatccatca	tggtgatgc	aatgcggcgg	ctgcatacgc	ttgatccggc	tacctgcca	7620
ttcgaccacc	aagcgaaaaca	tcgcatcgag	cgagcacgta	ctcgatgga	agccggtctt	7680
gtcgatcagg	atgatctgga	cgaagagcat	caggggctcg	cgccagccga	actgttcgcc	7740
aggctcaagg	cgcgcatgcc	cgacggcgag	gatctcgctg	tgacctatgg	cgatgcctgc	7800
ttgccgaata	tcatggtgga	aaatggccgc	ttttctggat	tcacgcactg	tggccggctg	7860
ggtgtggcgg	accgctatca	ggacatagcg	ttggtatccc	gtgatattgc	tgaagagctt	7920
ggcggcgaat	gggctgaccg	cttctctgctg	ctttacggta	tcgccgctcc	cgattcgag	7980
cgcacgcct	tctatgcct	tcttgacgag	ttcttctgag	cgggactctg	gggttcgaaa	8040
tgaccgacca	agcgacgccc	aacctgccat	cacgagattt	cgattccacc	gccgccttct	8100
atgaaagggt	gggcttcgga	atcgttttcc	gggacgcggg	ctggatgate	ctccagcgcg	8160
gggatctcat	gctggagttc	ttcgccacc	ccaacttggt	tattgcagct	tataatggtt	8220
acaaataaag	caatagcatc	acaaatttca	caaataaagc	atttttttca	ctgcattcta	8280
gttgtggttt	gtccaaactc	atcaatgtat	cttatcatgt	ctgtataaccg	tcgacctcta	8340

ES 2 608 321 T3

gctagagctt	ggcgtaatca	tggtcatagc	tgtttctgt	gtgaaattgt	tatccgctca	8400
caattccaca	caacatacga	gccggaagca	taaagtgtaa	agcctggggt	gcctaataag	8460
tgagctaact	cacattaatt	gcgttgcgct	cactgcccgc	tttccagtcg	ggaaacctgt	8520
cgtgccagct	gcattaatga	atcggccaac	gcgcggggag	aggcggtttg	cgtattgggc	8580
gctcttcgc	ttcctcgctc	actgactcgc	tgcgctcggt	cgttcggtg	cggcgagcgg	8640
tatcagctca	ctcaaaggcg	gtaatacgg	tatccacaga	atcaggggat	aacgcaggaa	8700
agaacatgtg	agcaaaaggc	cagcaaaagg	ccaggaaaccg	taaaaaggcc	gcgttgctgg	8760
cgtttttcca	taggctccgc	ccccctgacg	agcatcacaa	aaatcgacgc	tcaagtcaga	8820
ggtggcgaaa	cccgacagga	ctataaagat	accaggcggt	tccccctgga	agctccctcg	8880
tgcgctctcc	tgttccgacc	ctgcgcgtta	ccggatacct	gtccgccttt	ctcccttcgg	8940
gaagcgtggc	gctttctcat	agctcacgct	gtaggtatct	cagttcggtg	taggtcggtc	9000
gctccaagct	gggctgtgtg	cacgaacccc	ccgttcagcc	cgaccgctgc	gccttatccg	9060
gtaactatcg	tcttgagtcc	aacccggtaa	gacacgactt	atcgccactg	gcagcagcca	9120
ctggtaacag	gattagcaga	gcgaggtatg	taggcggtgc	tacagagttc	ttgaagtgg	9180
ggcctaacta	cggctacact	agaagaacag	tatttggtat	ctgcgctctg	ctgaagccag	9240
ttaccttcgg	aaaaagagtt	ggtagctctt	gatccggcaa	acaaaccacc	gctggtagcg	9300
gtttttttgt	ttgcaagcag	cagattacgc	gcagaaaaaa	aggatctcaa	gaagatcctt	9360
tgatcttttc	tacggggtct	gacgctcagt	ggaacgaaaa	ctcacgttaa	gggatttttg	9420
tcatgagatt	atcaaaaagg	atcttcacct	agatcctttt	aaattaaaaa	tgaagtttta	9480
aatcaatcta	aagtatatat	gagtaaaact	ggtctgacag	ttaccaatgc	ttaatcagtg	9540
aggcaacctat	ctcagcgatc	tgtctatttc	gttcatccat	agttgcctga	ctccccgctg	9600
tgtagataac	tacgatacgg	gagggccttac	catctggccc	cagtgtctga	atgataccgc	9660
gagaccacag	ctcacgggct	ccagatttat	cagcaataaa	ccagccagcc	ggaaggcccg	9720
agcgcagaag	tggtcctgca	actttatccg	cctccatcca	gtctattaat	tgttgccggg	9780
aagctagagt	aagtagttcg	ccagtttaata	gtttgcgcaa	cgttgttgcc	attgctacag	9840
gcatcgtggg	gtcacgctcg	togtttggtg	tggtctcatt	cagctccggg	tcccaacgat	9900
caaggcgagt	tacatgatcc	cccatgttgt	gcaaaaaagc	ggttagctcc	ttcggtcctc	9960
cgatcgttgt	cagaagtaag	ttggccgcag	tgttatcact	catggttatg	gcagcactgc	10020
ataattctct	tactgtcatg	ccatccgtaa	gatgcctttc	tgtgactggg	gagtactcaa	10080
ccaagtcatt	ctgagaatag	tgtatgcggc	gaccgagttg	ctcttgcccg	gcgtcaatac	10140
gggataatac	cgccgccacat	agcagaactt	taaaagtgt	catcattgga	aaacgttctt	10200
cggggcgaaa	actctcaagg	atcttaccgc	tggtgagatc	cagttcgatg	taaccctactc	10260
gtgcacccaa	ctgatcttca	gcattcttca	ctttcaccag	cgtttctggg	tgagcaaaaa	10320
caggaaaggca	aaatgccgca	aaaaagggaa	taagggcgac	acggaaatgt	tgaatactca	10380
tactcttctc	ttttcaatat	tattgaagca	tttatcaggg	ttattgtctc	atgagcggat	10440
acatatattga	atgtatttag	aaaaataaac	aaataggggt	tccgcgcaca	tttccccgaa	10500
aagtgccacc	tgacg					10515

Vector plg-C909-Ckappa (SEQ ID NO: 176)

tcgacggatc	gggagatctc	ccgatcccc	atggtgcact	ctcagtaaca	tctgctctga	60
tgccgcatag	ttaagccagt	atctgctccc	tgcttgtgtg	ttggagggtcg	ctgagtagtg	120
cgcgagcaaa	atttaagcta	caacaaggca	aggcttgacc	gacaattggt	aattaacatg	180
aagaatctgc	ttagggttag	gcgttttgcg	ctgcttcgct	agggtggtcaa	tattggccat	240
tagccatatt	attcattggg	tatatagcat	aaatcaatat	tggtctatttg	ccattgcata	300
cgttgtatcc	atatcataat	atgtacattt	atattggctc	atgtccaaca	ttaccgcca	360
gttgacattg	attattgact	agttattaat	agtaataaat	tacgggggtca	ttagttcata	420
gcccataatat	ggagttccgc	gttacataac	ttacggtaaa	tggccgcgct	ggctgaccgc	480
ccaacgaccc	ccgcccattg	acgtcaataa	tgacgtatgt	tcccatagta	acgccaatag	540
ggactttcca	ttgacgtcaa	tggttgagg	atttacggta	aactgcccac	ttggcagtag	600
atcaagtgtg	tcatatgcca	agtacgcccc	ctattgacgt	caatgacggg	aaatggcccc	660
cctggcatta	tgcccagtag	atgaccttat	gggactttcc	tacttggcag	tacatctacg	720
tattagtcatt	cgctattacc	atggtgatgc	ggttttggtg	gtacatcaat	gggcgtggat	780
agcggtttga	ctcacgggga	tttccaagtc	tccaccccat	tgacgtcaat	gggagtttgt	840
tttggtacca	aaatcaacgg	gactttccaa	aatgtcgtaa	caactccgcc	ccattgacgc	900
aaatggggcg	taggcgtgta	cggtgggagg	tctatataag	cagagctcgt	ttagtgaacc	960
gtcagatcgc	ctggagacgc	catccacgct	gttttgacct	ccatagaaga	caccgggacc	1020

ES 2 608 321 T3

gatccagcct	ccgcggccgg	gaacggtgca	ttggaatcga	tgactctctt	aggtagcctt	1080
gcagaagttg	gtcgtgaggc	actgggcagg	taagtatcaa	ggttacaaga	caggtttaag	1140
gagatcaata	gaaactgggc	ttgtcgagac	agagaagact	cttgcgtttc	tgataggcac	1200
ctattggtct	tactgacatc	cactttgcct	ttctctccac	agggtgtccac	tcccagttca	1260
attacagctc	gccaccatgc	ggctgcccg	ccagctgctg	ggccttctca	tgctgtgggt	1320
gcccgcctcg	agatctatcg	atgcatgcc	tggtaccaag	cttgccacca	tgagcagcag	1380
ctcttggtcg	ctgctgagcc	tggtggccgt	gacagccgc	cagagcacca	tcgaggagca	1440
ggccaagacc	ttcctggaca	agttcaacca	cgaggccgag	gacctgttct	accagagcag	1500
cctggccagc	tggaactaca	acaccaacat	caccgaggag	aacgtgcaga	acatgaacaa	1560
cgccggcgac	aagtggagcg	ccttcctgaa	ggagcagagc	acactggccc	agatgtaccc	1620
cctgcaggag	atccagaacc	tgaccgtgaa	gctgcagctg	caggccctgc	agcagaacgg	1680
cagcagcgtg	ctgagcgagg	acaagagcaa	gcggtgaac	acatcctga	acaccatgtc	1740
caccatctac	agcaccggca	aagtgtgcaa	ccccgacaac	ccccaggagt	gcctgctgct	1800
ggagcccggc	ctgaacgaga	tcatggccaa	cagcctggac	tacaacgagc	ggctgtgggc	1860
ctgggagagc	tggcggagcg	aagtgggcaa	gcagctgcgg	cccctgtacg	aggagtacgt	1920
ggtgctgaag	aacgagatgg	ccagggccaa	ccactacgag	gactacggcg	actactggag	1980
aggcgactac	gaagtgaacg	gcgtggacgg	ctacgactac	agcagaggcc	agctgacga	2040
ggacgtggag	cacaccttcg	aggagatcaa	gcctctgtac	gagcacctgc	acgcctacgt	2100
gcgggccaag	ctgatgaacg	cctaccccag	ctacatcagc	cccatcggt	gcctgcccg	2160
ccacctgctg	ggcgacatgt	ggggccggtt	ctggaccaac	ctgtacagcc	tgaccgtgcc	2220
cttcggccaag	aagcccaaca	tcgacgtgac	cgacgccatg	gtggaccagg	cctgggacgc	2280
ccagcggatc	ttcaaggagg	ccgagaagtt	cttcgtgagc	gtgggcctgc	ccaacatgac	2340
ccagggtttt	tgggagaaca	gcatgctgac	cgaccccggc	aatgtgcaga	aggcctgtgt	2400
ccaccccacc	gcctgggacc	tgggcaagg	cgacttcgg	atcctgatgt	gcaccaaagt	2460
gacctgggag	gacttcctga	ccgcccacca	cgagatgggc	cacatccagt	acgacatggc	2520
ctacgcggcc	cagcccttcc	tgctgcggaa	cggcgccaac	gagggttttc	acgaggccgt	2580
gggcgagatc	atgagcctga	gcgcgcccac	ccccaaacac	ctgaagagca	tcggcctgct	2640
gagccccgac	ttccaggagg	acaacgagac	cgagatcaac	ttcctgctga	agcaggccct	2700
gaccatcgtg	ggcaccctgc	ccttcacct	catgctggag	aagtggcggt	ggatggtgtt	2760
taagggcgag	atccccaagg	accagtggat	gaagaagtgg	tgggagatga	agcgggagat	2820
cgtgggctg	gtggagcccc	tgccccacga	cgagacctac	tgcgaccccc	ccagcctgtt	2880
ccacgtgagc	aacgactact	ccttcacccg	gtactacacc	cggaccctgt	accagttcca	2940
gttcaggag	gcccgtgtgc	aggccgcaa	gcacgagggc	cccctgcaca	agtgcgacat	3000
cagcaacagc	accgaggccg	gacagaaact	gttcaacatg	ctgcggctgg	gcaagagcga	3060
gcccctggacc	ctggccctgg	agaatgtggt	gggcgccaag	aacatgaatg	tgcgccccct	3120
gctgaactac	ttcgagcccc	tgttcacctg	gctgaaggac	cagaacaaga	acagcttcgt	3180
gggctggagc	accgactgga	gcccctacgc	cgaccagagc	atcaaagtgc	ggatcagcct	3240
gaagagcgcc	ctgggcgaca	aggcctacga	gtggaacgac	aacgagatgt	acctgttccg	3300
gagcagcgtg	gcctatgcc	tgccggcagta	cttcctgaaa	gtgaagaacc	agatgatcct	3360
gttcggcgag	gaggacgtga	gagtggccaa	cctgaagccc	cggatcagct	tcaacttctt	3420
cgtgaccgcc	cccaagaacg	tgagcgacat	catcccccg	accgaagtgg	agaaggccat	3480
ccgatgagc	cggagccgga	tcaacgacgc	cttcggctg	aacgacaact	ccctggagtt	3540
cctgggcac	cagcccaccc	tgggcccctc	caaccagccc	cccgtgagca	tctggctgat	3600
cgtgtttggc	gtggtgatgg	gcgtgatcgt	ggtgggaatc	gtgatcctga	tcttcaccgg	3660
catccgggac	cggaagaaga	agaacaaggc	ccggagcggc	gagaacccct	acgccagcat	3720
cgatatcagc	aagggcgaga	acaaccccgg	cttcagaaac	accgacgacg	tgacagaccg	3780
cttctgataa	tctagaacga	gctcgaattc	gaagcttctg	cagacgcgtc	gacgtcatat	3840
ggatccgata	tcgcctgtgg	ggccgcaccc	agcgtgttca	tcttcccccc	ctccgacgag	3900
cagctgaaga	gcggcaccgc	cagcgtggtg	tgccctgctga	acaacttcta	ccccggggag	3960
gccaaggtgc	agtggaaagt	ggacaacgcc	ctgcagagcg	gcaacagcca	ggagagcgtg	4020
accgagcagg	acagcaagga	ctccacctac	agcctgagca	gcaccctcac	cctgagcaag	4080
gccgactacg	agaagcacaa	ggtgtacgcc	tgcgaggtga	cccaccagg	cctgagcagc	4140
cccgtagacca	agagcttcaa	ccggggcgag	tggttaataga	cttaagttta	aaccgctgat	4200
cagcctcgac	tgtgccttct	agttgccagc	catctgttgt	ttgcccctcc	cccgtgcctt	4260
ccttgaccct	ggaaggtgcc	actcccactg	tcctttccta	ataaaatgag	gaaattgcat	4320
cgcattgtct	gagtaggtgt	cattctatct	tgggggggtg	ggtggggcag	gacagcaagg	4380
gggaggattg	ggaagacaat	agcaggcatg	ctggggatgc	ggtgggctct	atggcttctg	4440

ES 2 608 321 T3

aggcggaaaag	aaccagctgg	ggctctaggg	ggtatcccca	cgcgccctgt	agcggcgcgat	4500
taagcgcggc	gggtgtggtg	gttacgcgca	gcgtgaccgc	tacacttgcc	agcgccttag	4560
cgccccgtcc	tttcgctttc	ttcccttct	ttctcgccac	gttcgcggc	tttccccgtc	4620
aagctctaaa	tcgggggctc	cctttaggg	tccgatttag	tgctttacgg	cacctcgacc	4680
ccaaaaaact	tgattaggg	gatggttcac	gtagtgggcc	atcgccctga	tagacggttt	4740
ttcgcccttt	gacgttggag	tccacgttct	ttaatagtgg	actcttggtc	caaactggaa	4800
caacactcaa	ccctatctcg	gtctattctt	ttgatttata	agggattttg	gccatttcgg	4860
cctattgggt	aaaaaatgag	ctgatttaac	aaaaatttaa	cgcgaattaa	ttctgtggaa	4920
tgtgtgtcag	ttagggtgtg	gaaagtcccc	aggctcccca	gcaggcagaa	gtatgcaaag	4980
catgcctctc	aattagtcag	caaccagggt	tggaaagtcc	ccaggctccc	cagcaggcag	5040
aagtatgcaa	agcatgcctc	tcaattagtc	agcaaccata	gtcccgcccc	taactccgcc	5100
catcccgccc	ctaactccgc	ccagtccgc	ccattctccg	ccccatgget	gactaatttt	5160
ttttatttat	gcagaggccg	aggccgcctc	tgccctctgag	ctattccaga	agtagtgagg	5220
aggctttttt	ggaggccctag	gcttttgcaa	aaagctcccc	ggagcttgta	tatccatttt	5280
cggatctgat	cagcacgtga	tgaaaaagcc	tgaactcacc	gcgacgtctg	tcgagaagtt	5340
tctgatcgaa	aagttcgaca	gcgtctccga	cctgatgcag	ctctcgagg	gcgaagaatc	5400
tcgtgctttc	agcttcgatg	taggagggcg	tggatatgtc	ctgcgggtaa	atagctgcgc	5460
cgatggtttc	tacaaagatc	gttatgttta	tcggcacttt	gcacggtccg	cgctcccgat	5520
tcgggaagtg	cttgacattg	gggaattcag	cgagagcctg	acctattgca	tctcccgccg	5580
tgacacaggt	gtcacgttgc	aagacctgcc	tgaaccgaa	ctgcccgtcg	ttctgcagcc	5640
ggtcgcggag	gccatggatg	cgatcgctgc	ggccgatctt	agccagacga	gcgggttcgg	5700
cccattcgga	ccacaaggaa	tcggtcaata	cactacatgg	cgtgatttca	tatgcgcgat	5760
tgctgatccc	catgtgtatc	actggcaaac	tgtgatggac	gacaccgtca	gtgcgtccgt	5820
cgcgcaggct	ctcgatgagc	tgatgctttg	ggccgaggac	tgccccgaag	tcgggcacct	5880
cgtgcacgct	gatttcggct	ccaacaatgt	cctgacggac	aatggccgca	taacagcgg	5940
cattgactgg	agcgaggcga	tgttcgggga	ttcccaatac	gaggctcgcca	acatcttctt	6000
ctggaggccg	tggttggtct	gtatggagca	gcagacgcgc	tacttcgagc	ggaggcatcc	6060
ggagcttgca	ggatcgccgc	ggctccgggc	gtatatgtct	cgcattgggtc	ttgaccaact	6120
ctatcagagc	ttgggtgacg	gcaatttcga	tgatgcagct	tgggcgcagg	gtcgatgcga	6180
cgcaatcgct	cgatccggag	ccgggactgt	cgggcgta	caaatcgccc	gcagaagcgc	6240
ggccgtctgg	accgatggct	gtgtagaagt	actcgccgat	agtggaaacc	gacgccccag	6300
cactcgctcc	agggcaaaag	aatagcacgt	gctacgagat	ttcgattcca	ccgcgcctt	6360
ctatgaaaag	ttgggcttcg	gaatcgtttt	ccgggacgcc	ggctggatga	tcctccagcg	6420
cggggatctc	atgctggagt	tcttcgcccc	ccccaacttg	tttattgcag	cttataatgg	6480
ttacaaataa	agcaatagca	tcacaaat	cacaaataaa	gcattttttt	cactgcattc	6540
tagttgtggt	ttgtccaaac	tcacaaat	atcttatcat	gtctgtatac	cgtcgacctc	6600
tagctagagc	ttggcgta	catggtcata	gctgtttcct	gtgtgaaatt	gttatccgct	6660
cacaattcca	cacaacatac	gagccggaag	cataaagtgt	aaagcctggg	gtgcctaatt	6720
agttagctaa	ctcacattaa	ttgcgttgcg	ctcactgccc	gctttccagt	cgggaaacct	6780
gtcgtgccag	ctgcattaat	gaatcgggca	acgcgcgggg	agaggcgggt	tgcgatttgg	6840
gcgctcttcc	gcttctctgc	tcactgactc	gctgcgctcg	gtcgttcggc	tgccgagcgc	6900
ggatcatcgt	cactcaaaag	cggtaatac	gttatccaca	gaatcagggg	ataacgcagg	6960
aaagaacatg	tgagcaaaa	gccagcaaaa	ggccaggga	cgtaaaaagg	ccgcgttgct	7020
ggcgtttttc	cataggctcc	gccccctga	cgagcatcac	aaaaatcgac	gctcaagtca	7080
gaggtggcga	aaccgcagag	gactataaag	ataccaggcg	tttccccctg	gaagctccct	7140
cgtgcgctct	cctgttccga	ccctgcgct	taccggatac	ctgtccgct	ttctcccttc	7200
gggaagcgtg	gcgctttctc	atagctcacg	ctgtaggtat	ctcagttcgg	tgtaggtcgt	7260
tcgctccaag	ctgggctgtg	tgacgaacc	ccccgttcag	cccagccgct	gcgccttatt	7320
cggtaactat	cgtcttgagt	ccaaccgggt	aagacacgac	ttatcgccac	tggcagcagc	7380
cactggtaac	aggattagca	gagcgaggta	tgtaggcgg	gctacagagt	tcttgaagt	7440
gtggcctaac	tacggctaca	ctagaagaac	agtatttgg	atctgcgctc	tgctgaagcc	7500
agttaccttc	ggaaaaagag	ttggtagctc	ttgatccggc	aaacaaacca	ccgctggtag	7560
cggttttttt	gtttgcaagc	agcagattac	gcgcagaaaa	aaaggatctc	aagaagatcc	7620
tttgatcttt	tctacgggg	ctgacgctca	gtggaacgaa	aactcacgtt	aagggtttt	7680
ggatcatgaga	ttatcaaaaa	ggatcttcac	ctagatcctt	ttaaattaaa	aatgaagttt	7740
taaatcaatc	taaagtatat	atgagtaaac	ttggtctgac	agttaccaat	gcttaatcag	7800
tgaggcacct	atctcagcga	tctgtctatt	tcgttcaccc	atagttgcct	gactccccgt	7860

ES 2 608 321 T3

cgtgtagata	actacgatac	gggagggcct	accatctggc	cccagtgctg	caatgatacc	7920
gcgagaccca	cgctcaccgg	ctccagattt	atcagcaata	aaccagccag	ccggaagggc	7980
cgagcgcaga	agtggtcctg	caactttatc	cgctccatc	cagtctatta	attggtgccg	8040
ggaagctaga	gtaagtgtt	cgccagttaa	tagtttgccg	aacggtgttg	ccattgctac	8100
aggcatcgtg	gtgtcacgct	cgctgtttgg	tatggcttca	ttcagctccg	gttcccaacg	8160
atcaaggcga	gttacatgat	ccccatggt	gtgcaaaaa	gcggttagct	ccttcgggtcc	8220
tccgatcgtt	gtcagaagta	agttggccgc	agtgttatca	ctcatgggta	tggcagcact	8280
gcataattct	cttactgtca	tgccatccgt	aagatgcctt	tctgtgactg	gtgagtactc	8340
aaccaagtca	ttctgagaat	agtgtatgcg	gcgaccgagt	tgctcttgcc	cggcgtcaat	8400
acgggataat	accgcgccac	atagcagaac	tttaaaagt	ctcatcattg	gaaaacgttc	8460
ttcggggcga	aaactctcaa	ggatcttacc	gctgttgaga	tccagttcga	tgtaacccac	8520
tcgtgcaccc	aactgatctt	cagcatcttt	tactttcacc	agcgtttctg	ggtgagcaaa	8580
aacaggaagg	caaaatgccg	caaaaaagg	aataaggggc	acacggaaat	gttgaatact	8640
catactcttc	ctttttcaat	attattgaag	catttatcag	ggttattgtc	tcatgagcgg	8700
atacatattt	gaatgtat	agaaaaataa	acaaataggg	gttccgcgca	catttccccg	8760
aaaagtgcc	cctgacg					8777

Vector plg-C910-Clambda (SEQ ID NO: 177)

tcgacggatc	gggagatctc	ccgatcccc	atggtgcact	ctcagtacaa	tctgctctga	60
tgccgcatag	ttaagccagt	atctgctccc	tgcttggtg	ttggaggtcg	ctgagttagt	120
cgcgagcaaa	atttaagcta	caacaaggca	agccttgacc	gacaattggt	aattaacatg	180
aagaatctgc	ttagggtag	gcgttttgcc	ctgcttcgct	aggtgggtcaa	tattggccat	240
tagccatatt	attcattggt	tatatagcat	aaatcaatat	tggtctattg	ccattgcata	300
cgttgatcc	atatcataat	atgtacattt	atattggctc	atgtccaaca	ttaccgccat	360
gttgacattg	attattgact	agttattaat	agtaaatcaat	tacgggggtca	ttagttcata	420
gcccataat	cgagttccgc	gttacataac	ttacggtaaa	tgcccccgcct	ggctgaccgc	480
ccaacgaccc	ccgcccattg	acgtcaataa	tgacgtatgt	tcccatagta	acgccaatag	540
ggactttcca	ttgacgtcaa	tggttgaggt	atttacggta	aactgccccac	ttggcagtag	600
atcaagtgt	tcatatgcc	agtacgcccc	ctattgacgt	caatgacggt	aaatggcccc	660
cctggcatta	tgcccagtag	atgaccttat	gggactttcc	tacttggcag	tacatctacg	720
tattagtc	cgctattacc	atggtgatgc	ggttttggca	gtacatcaat	gggcgtggat	780
agcgttttga	ctcacgggga	tttccaagtc	tccaccccat	tgacgtcaat	gggagtttgt	840
tttggcacca	aaatcaacgg	gactttccaa	aatgtcgtaa	caactccgcc	ccattgacgc	900
aaatgggcgg	taggcgtgta	cggtgggagg	tctatataag	cagagctcgt	ttagtgaacc	960
gtcagatcgc	ctggagacgc	catccacgct	gttttgacct	ccatagaaga	caccgggacc	1020
gatccagcct	ccgcggccgg	gaacgggtgca	ttggaatcga	tgactctctt	aggtagcctt	1080
gcagaagtgt	gtcgtgaggg	actgggcagg	taagtatcaa	ggttacaaga	cagggttaag	1140
gagatcaata	gaaactgggc	ttgtcgagac	agagaagact	cttgcttttc	tgataggcac	1200
ctattggtct	tactgacatc	cactttgcct	ttctctccac	aggtgtccac	tcccagttca	1260
attacagctc	gccaccatgc	ggttctccgc	tcagctgctg	ggccttctgg	tgctgtggat	1320
tcccggcgtc	tcgagatcta	tcgatgcacg	ccatgggtacc	aagcttgcca	ccatgagcag	1380
cagctcttgg	ctgctgctga	gcctgggtggc	cgtgacagcc	gcccagagca	ccatcgagga	1440
gcaggccaag	accttccctg	acaagttcaa	ccacgaggcc	gaggacctgt	tctaccagag	1500
cagcctggcc	agctggaact	acaacaccaa	catcacccag	gagaacgtgc	agaacatgaa	1560
caacgcgggc	gacaagtgga	gcgccttcc	gaaggagcag	agcacactgg	cccagatgta	1620
ccccctgcag	gagatccaga	acctgaccgt	gaagctgcag	ctgcaggccc	tgacagcaga	1680
cggcagcagc	gtgctgagcg	aggacaagag	caagcggctg	aacaccatcc	tgaacaccat	1740
gtccaccatc	tacagcaccg	gcaaagtgtg	caaccccagc	aaccccagc	agtgcctgct	1800
gctggagccc	ggcctgaacg	agatcatggc	caacagcctg	gactacaacg	agcggctgtg	1860
ggcctgggag	agctggcgga	gcgaagtggg	caagcagctg	cggcccctgt	acgaggagta	1920
cgtggtgctg	aagaacgaga	tgccacgggc	caaccactac	gaggactacg	gcgactactg	1980
gagaggcgac	tacgaagtga	acggcgtgga	cggtctacgac	tacagcagag	gccagctgat	2040
cgaggacgtg	gagcacacct	tcgaggagat	caagcctctg	tacgagcacc	tgacgcctta	2100
cgtgcggggc	aagctgatga	acgcctaccc	cagctacatc	agccccatcg	gctgctgcc	2160
cgcccacctg	ctggcgaca	tgtggggccg	gttctggacc	aacctgtaca	gcctgaccgt	2220
gcccctcggc	cagaagccca	acatcgacgt	gaccgacgcc	atggtggacc	aggcctggga	2280
cgccacgcgg	atcttcaagg	aggcccgaga	gttcttctgt	agcgtggggc	tgcccaacat	2340

ES 2 608 321 T3

gacccagggc	ttttgggaga	acagcatgct	gaccgacccc	ggcaatgtgc	agaaggccgt	2400
gtgccacccc	accgcctggg	acctgggcaa	gggcgacttc	cggatcctga	tgtgcaccaa	2460
agtgaccatg	gacgacttcc	tgaccgcccc	ccacgagatg	ggccacatcc	agtacgacat	2520
ggcctacgcc	gccagccctt	tcctgctgcg	gaacggcgcc	aacgagggct	ttcacgaggc	2580
cgtgggagag	atcatgagcc	tgagcgccgc	cacccccaa	cacctgaaga	gcatcggcct	2640
gctgagcccc	gacttccagg	aggacaacga	gaccgagatc	aacttcctgc	tgaagcaggc	2700
cctgaccatc	gtgggcaccc	tgcccttcac	ctacatgctg	gagaagtggc	ggtggatggt	2760
gtttaagggc	gagatcccca	aggaccagtg	gatgaagaag	tggtgggaga	tgaagcggga	2820
gatcgtgggc	gtggtggagc	ccgtgcccc	cgacgagacc	tactgcgacc	ccgccagcct	2880
gttccacgtg	agcaacgact	actccttcac	ccggtactac	acccggaccc	tgtaccagtt	2940
ccagttccag	gaggccctgt	gccaggccgc	caagcacgag	ggccccctgc	acaagtgcga	3000
catcagcaac	agcaccgagg	ccggacagaa	actgttcaac	atgctgcggc	tgggcaagag	3060
cgagccctgg	accctggccc	tggagaatgt	ggtgggcggc	aagaacatga	atgtgcgccc	3120
cctgctgaac	tacttcgagc	ccctgttcac	ctggtgaag	gaccagaaca	agaacagctt	3180
cgtgggctgg	agcaccgact	ggagccccta	cgccgaccag	agcatcaaag	tcgggatcag	3240
cctgaagagc	gccccgggcg	acaaggccta	cgagtggaa	gacaacgaga	tgtacctgtt	3300
ccggagcagc	gtggcctatg	ccatgcggca	gtacttcctg	aaagtgaaga	accagatgat	3360
cctgttcggc	gaggaggacg	tgagagtggc	caacctgaag	ccccggatca	gcttcaactt	3420
cttcgtgacc	gcccccaaga	acgtgagcga	catcatcccc	cggaccgaag	tggaagaaggc	3480
catccggtatg	agccggagcc	ggatcaacga	cgccttcccg	ctgaacgaca	actccctgga	3540
gttcctgggc	atccagcccc	ccctgggccc	tcccaaccag	ccccccgtga	gcatctggct	3600
gatcgtgttt	ggcgtggtga	tgggcgtgat	cgtggtggga	atcgtgatcc	tgatcttcac	3660
cggcatccgg	gaccggaaga	agaagaacaa	ggcccgagc	ggcgagaacc	cctacgccag	3720
catcgatatc	agcaagggcg	agaacaaccc	cggcttccag	aacaccgacg	acgtgcagac	3780
cagcttctga	taatctagaa	cgagctcgaa	ttcgaagctt	ctgcagacgc	gtcagctca	3840
tatggatccg	atatcgccgt	ggcgcccgca	ggccagccca	aggccgctcc	cagcgtgacc	3900
ctgttccccc	cctcctccga	ggagctgcag	gccaacaagg	ccaccctggg	gtgcctcatc	3960
agcgacttct	accctggcgc	cgtgaccgtg	gcctggaagg	ccgacagcag	ccccgtgaag	4020
gccggcgtgg	agaccaccac	ccccagcaag	cagagcaaca	acaagtacgc	cgccagcagc	4080
tacctgagcc	tcacccccga	gcagtggaa	agccaccgga	gctacagctg	ccaggtgacc	4140
cacgagggca	gcaccgtgga	gaagaccgtg	gccccaccgc	agtgcagcta	atagacttaa	4200
gtttaaaccg	ctgatcagcc	tcgactgtgc	cttctagtgt	ccagccatct	gttgtttgcc	4260
cctccccctg	gccttccctg	accctggaag	gtgccactcc	cactgtcctt	tcctaataaa	4320
atgagaaaat	tgcatcgcat	tgtctgagta	ggtgtcattc	tattctgggg	ggtggggtgg	4380
ggcaggacag	caagggggag	gattgggaag	acaatagcag	gcatgctggg	gatgcggtgg	4440
gctctatggc	ttctgaggcg	gaaagaacca	gctggggctc	taggggggat	ccccacgcgc	4500
cctgtagcgg	cgcattaagc	gcggcgggtg	tggtgggttac	gcgcagcgtg	accgctacac	4560
ttgccagcgc	cctagcgccc	gctcctttcg	ctttcttccc	ttcctttctc	gccacgttcg	4620
ccggctttcc	ccgtcaagct	ctaaatcggg	ggctcccttt	agggttccga	tttagtgctt	4680
tacggcacct	cgacccccaa	aaacttgatt	agggtgatgg	ttcacgtagt	gggccatcgc	4740
cctgatatag	ggttttttcgc	cctttgacgt	tggagtccac	gttctttaat	agtggactct	4800
tgttccaaac	tggaaacaaca	ctcaacccta	tctcggtcta	ttcttttgat	ttataaggga	4860
ttttggccat	ttcggcctat	tggttaaaaa	atgagctgat	ttaaacaaaa	tttaacgcga	4920
attaattctg	tggaaatgtgt	gtcagttagg	gtgtggaaag	tccccaggct	ccccagcagg	4980
cagaagtatg	caaagcatgc	atctcaatta	gtcagcaacc	aggtgtggaa	agtccccagg	5040
ctccccagca	ggcagaagta	tgcaaagcat	gcatctcaat	tagtcagcaa	ccatagtcct	5100
gcccctaact	ccgcccctcc	cgcccctaac	tccgcccagt	tccgcccatt	ctccgcccc	5160
tggtgacta	atTTTTTTT	tttatgcaga	ggccgaggcc	gcctctgcct	ctgagctatt	5220
ccagaagtag	tgaggaggct	tttttgagg	cctaggcttt	tgcaaaaagc	tcccgggagc	5280
ttgtatatcc	atTTTtcggat	ctgatcagca	cgtgatgaaa	aagcctgaac	tcaccgcgac	5340
gtctgtcgag	aagtttctga	tcgaaaagtt	cgacagcgtc	tccgacctga	tgcagctctc	5400
ggagggcgaa	gaatctcgtg	ctttcagctt	cgatgtagga	gggcgtggat	atgtcctgcg	5460
ggtaaatagc	tgcgccgatg	gtttctacaa	agatcgttat	gtttatcggc	actttgcctc	5520
ggccgcgctc	ccgattccgg	aagtgcctga	cattggggaa	ttcagcgaga	gcctgacctc	5580
ttgcatctcc	cgcctgtcac	agggtgtcac	gttgcaagac	ctgcctgaaa	ccgaactgcc	5640
cgtgttctg	cagccggtcg	cggaggccat	ggatgcgac	gctgcggccg	atcttagcca	5700
gacgagcggg	ttcgggccc	tcggaccgca	aggaatcggg	caatacacta	catggcgtga	5760

```

tttcatatgc gcgattgctg atcccatgt gtatcaactgg caaactgtga tggacgacac 5820
cgctcagtgc tccgtcgcgc aggtctctga tgagctgatg ctttggggccg aggactgccc 5880
cgaagtccgg cactcctgtg acgcggattt cggctccaac aatgtcctga cggacaatgg 5940
ccgcataaca gcggtcattg actggagcga ggcgatgttc ggggattccc aatacgaggt 6000
cgccaacatc ttcttctgga ggccgtggtt ggcttgtatg gagcagcaga cgcgctactt 6060
cgagcggagg catccggagc ttgcaggatc ggcgcggctc cggcggtata tgctccgcat 6120
tggtcttgac caactctatc agagcttggg tagcatcaca aatttcacaa ataaagcatt 6180
gcaggggtcga tgcgacgcaa tcgtccgac cggagccggg actgtcgggc gtacacaaat 6240
cgcccgcaga agcgcggccg tctggaccga ttgctgtgta gaagtactcg ccgatagtgg 6300
aaaccgacgc cccagcactc gtccgagggc aaaggaatag cactgtctac gagatttcga 6360
ttccaccgcc gccttctatg aaaggttggg ctccggaatc gttttccggg acgccggctg 6420
gatgatcctc cagcgcgggg atctcatgct ggagttcttc gccacccca acttgtttat 6480
tgcagcttat aatgggttaca aataaagcaa tagcatcaca aatttcacaa ataaagcatt 6540
tttttcaactg cattctagtt gtggtttgtc caaactcatc aatgtatctt atcatgtctg 6600
tataccgtcg acctctagct agagcttggc gtaatcatgg tcatagctgt ttctgtgtg 6660
aaattgttat ccgctcaca ttccacacaa catacagagc ggaagcataa agtgtaaagc 6720
ctgggggtgcc taatgagtga gctaactcac attaattgct ttgcgctcac tgcccgcctt 6780
ccagtcggga aacctgtcgt gccagctgca ttaatgaatc ggccaacgcg cggggagagg 6840
cggtttgctg attgggcgct ctccgccttc ctgcgtcact gactcgtgc gctcggctgt 6900
tcggctgctg cgagcgggat cagctcactc aaaggcggta atacggttat ccacagaatc 6960
aggggataac gcaggaaaga acatgtgagc aaaaggccag caaaaggcca ggaaccgtaa 7020
aaaggccgcg ttgctggcgt ttttccatag gctccgccc cctgacgagc atcacaaaaa 7080
tcgacgctca agtcagaggt ggcgaaacc gacaggacta taaagatacc agcggtttcc 7140
ccctggaagc tccctcgtgc gctctcctgt tccgacctg ccgcttaccg gatacctgtc 7200
cgctttcttc ccttcgggaa gcgtggcgct ttctcatagc tcacgctgta ggtatctcag 7260
ttcgtgtag tcgcttcgct ccaagctggg ctgtgtgcac gaacccccg ttcagcccg 7320
ccgctgcgcc ttatccggta actatcgtct tgagtccaac ccgtaagac acgacttctc 7380
gccactggca gcagccactg gtaacaggat tagcagagcg aggtatgtag gcggtgctac 7440
agagttcttg aagtgtggc ctaactacgg ctacactaga agaacagtat ttggtatctg 7500
cgctctgctg aagccagtta ccttcggaaa aagagttggt agctcttgat ccggcaaaac 7560
aaccaccgct ggtagcgggt tttttgtttg caagcagcag attacgcgca gaaaaaaagg 7620
atctcaagaa gatcctttga tctttctac ggggtctgac gctcagtgga acgaaaactc 7680
acgttaaggg attttgggtc tgagattatc aaaaaggatc ttcacctaga tccttttaa 7740
ttaaaaatga agttttaaat caatctaaag tatatatgag taaacttggg ctgacagtta 7800
ccaatgctta atcagtagg cacctatctc agcgtctgt ctatttcgtt catccatagt 7860
tgctgactc cccgtcgtgt agataactac gatcgggag ggcttaccat ctggccccag 7920
tgctgcaatg ataccgcgag acccacgctc accggtcca gatttatcag caataaacca 7980
gccagccgga agggccgagc gcagaagtgg tcctgcaact ttatccgcct ccatccagtc 8040
tattaattgt tgccgggaag cttagtaag tagttcgcca gttaatagtt tgcgcaacgt 8100
tggtgccatt gctacaggca tcgtggtgtc acgctcgtcg tttggtatgg cttcattcag 8160
ctccggttcc caacgatcaa ggcgagttac atgatcccc atgttgtgca aaaaagcgg 8220
tagctccttc ggtcctccga tcgtgtgtag aagtaagttg gccgcagtg tctactcat 8280
ggttatggca gactgcata attctcttac tgtcatgcca tccgtaagat gcttttctgt 8340
gactggtgag tactcaacca agtcattctg agaatagtgt atgcggcgac cgagttgctc 8400
ttgcccggg tcaatacggg ataataccgc gccacatagc agaactttaa aagtgtcat 8460
cattggaaaa cgctcttcgg gcgaaaaact ctcaaggatc ttaccgctgt tgagatccag 8520
ttcgtatgtaa cccactcgtg caccacactg atcttcagca tcttttactt tcaccagcgt 8580
ttctgggtga gaaaaacag gaaggcaaaa tgccgcaaaa aagggaataa ggcgacacg 8640
gaaatggtga atactcatac tcttcctttt tcaatattat tgaagcattt atcagggtta 8700
ttgtctcatg agcggatata tatttgaatg tatttagaaa aataaacaaa taggggttcc 8760
gcgcacattt ccccgaaaag tgccacctga cg 8792

```

REFERENCIAS

- 5 Air MA (1981), Sequence relationships among the hemagglutinin genes of 12 subtypes of influenza A virus. Proc Natl Acad Sci USA 78(12):7639-7643.
- De Kruif J et al. (1995), Rapid selection of cell subpopulation-specific human monoclonal antibodies from a synthetic phage antibody library. Proc Natl Acad Sci USA 92:3938.
- 10 Ferguson et al., (2003), Nature 422:428-443.
- Fouchier AM et al. (2005), Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. J Virol 79(5):2814-2822.
- 15 The World Health Organization Global Influenza Program Surveillance Network (2005), Evolution of H5N1 Avian Influenza Viruses in Asia. Emerg Infect Dis 11:1515-1521.

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo aislado o un fragmento de unión a antígeno del mismo, capaz de unirse específicamente a un epítipo en la región de tallo de la proteína hemaglutinina (HA) de los subtipos de virus de la gripe A del grupo filogenético 1 y los subtipos de virus de la gripe A del grupo filogenético 2, y capaz de neutralizar a al menos uno o más subtipos de virus de la gripe A del grupo 1, seleccionado entre el grupo que consiste en virus de la gripe A que comprenden HA de los subtipos H1, H2, H5, H6, H8, H9 y H11, y al menos uno o más subtipos de virus de la gripe A del grupo 2, seleccionado entre el grupo que consiste en virus de la gripe A que comprenden HA de los subtipos H3, H4, H7, y H10, caracterizado por que el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo también es capaz de unirse específicamente a la proteína hemaglutinina (HA) de subtipos del virus de la gripe B.
2. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo no tiene actividad inhibidora de la hemaglutinación.
3. Un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en donde el anticuerpo o el fragmento de unión a antígeno del mismo se selecciona entre el grupo que consiste en:
 - un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 145, y una región CDR1 de cadena ligera de SEQ ID NO: 146, una región CDR2 de cadena ligera de SEQ ID NO: 174, y una región CDR3 de cadena ligera de SEQ ID NO: 147,
 - una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134,
 - y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 145, y una región CDR1 de cadena ligera de SEQ ID NO: 148, una región CDR2 de cadena ligera de SEQ ID NO: 149, y una región CDR3 de cadena ligera de SEQ ID NO: 150,
 - una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134,
 - y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 145, y una región CDR1 de cadena ligera de SEQ ID NO: 142, una región CDR2 de cadena ligera de SEQ ID NO: 143, y una región CDR3 de cadena ligera de SEQ ID NO: 173;
 - un anticuerpo o fragmento de unión a antígeno del mismo que comprende una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134, y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 152, y una región CDR1 de cadena ligera de SEQ ID NO: 148, una región CDR2 de cadena ligera de SEQ ID NO: 149, y una región CDR3 de cadena ligera de SEQ ID NO: 150,
 - una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134,
 - y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 152, y una región CDR1 de cadena ligera de SEQ ID NO: 156, una región CDR2 de cadena ligera de SEQ ID NO: 157, y una región CDR3 de cadena ligera de SEQ ID NO: 158,
 - una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 130 y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 152, y una región CDR1 de cadena ligera de SEQ ID NO: 171, una región CDR2 de cadena ligera de SEQ ID NO: 164, y una región CDR3 de cadena ligera de SEQ ID NO: 172, y
 - una región CDR1 de cadena pesada de SEQ ID NO: 139, una región CDR2 de cadena pesada de SEQ ID NO: 134,
 - y una región CDR3 de cadena pesada de SEQ ID NO: 152, y una región CDR1 de cadena ligera de SEQ ID NO: 142, una región CDR2 de cadena ligera de SEQ ID NO: 143, y una región CDR3 de cadena ligera de SEQ ID NO: 144.
4. Una molécula de ácido nucleico que codifica un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3.
5. Un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, y/o una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 4, para su uso como medicamento.
6. Un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con la reivindicación 5 para su uso en el tratamiento profiláctico y/o terapéutico de la infección por el virus de la gripe.
7. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo o un fragmento de unión a antígeno del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, y/o una molécula de ácido nucleico de acuerdo con la reivindicación 4, y un excipiente farmacéuticamente aceptable.

FIG. 1.

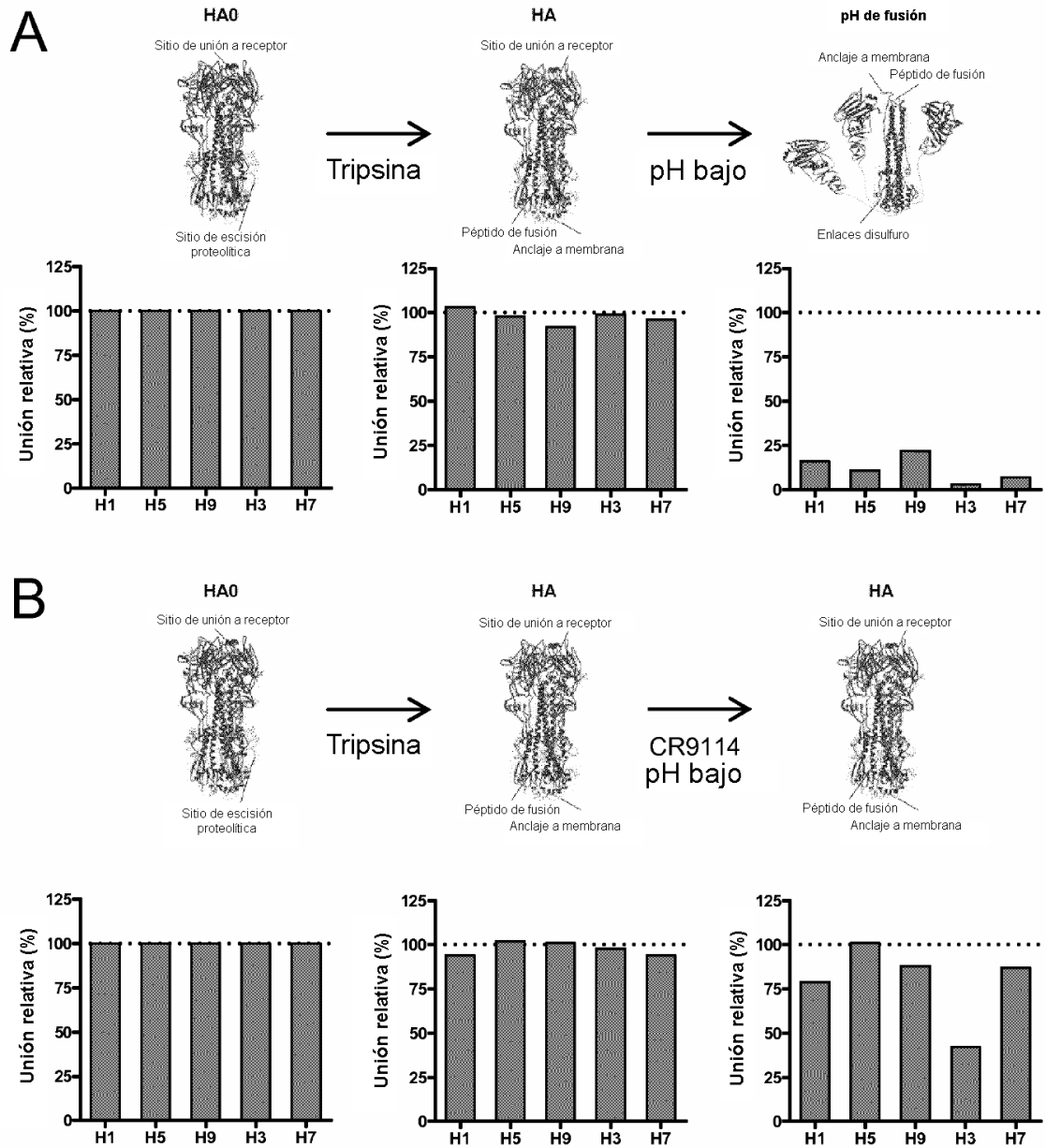


FIG. 2

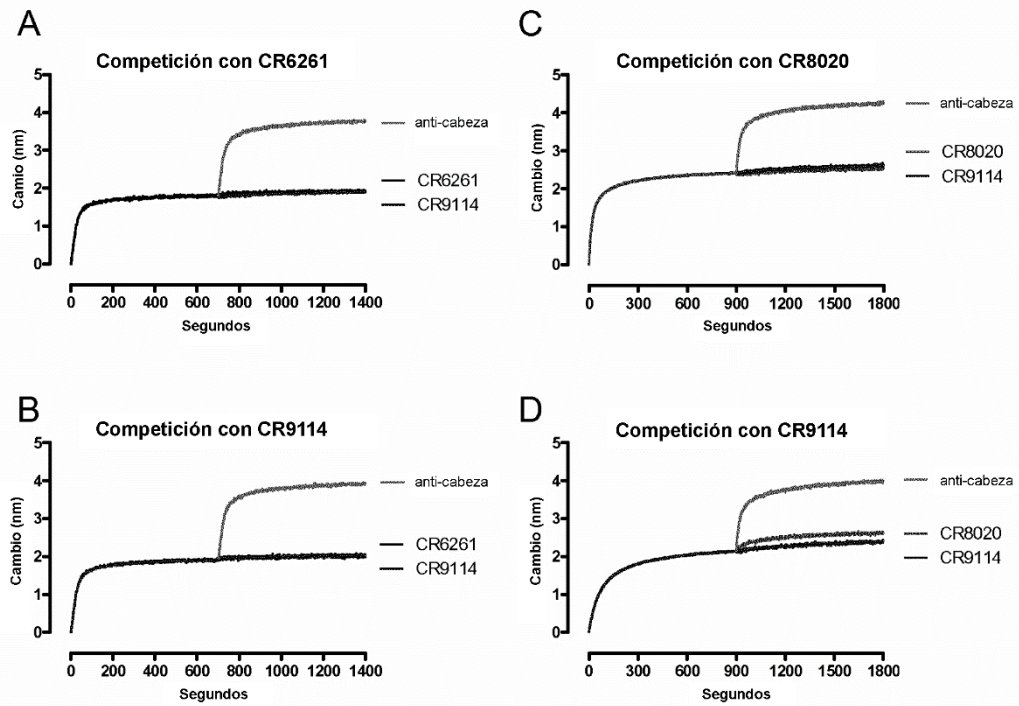


FIG. 3