

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 664 095**

51 Int. Cl.:

**C07K 16/00** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **25.11.2013 PCT/IB2013/060384**

87 Fecha y número de publicación internacional: **12.06.2014 WO14087299**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **25.11.2013 E 13824174 (0)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **28.02.2018 EP 2928917**

54 Título: **Fragmentos de anticuerpos monoméricos diseñados mediante ingeniería genética**

30 Prioridad:

**07.12.2012 US 201261734841 P**

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

**18.04.2018**

73 Titular/es:

**PFIZER INC. (100.0%)  
235 East 42nd Street  
New York, NY 10017, US**

72 Inventor/es:

**DUAN, WEILI;  
KRIZ, RONALD, W. y  
TETSUYA, ISHINO**

74 Agente/Representante:

**CARPINTERO LÓPEZ, Mario**

ES 2 664 095 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

Fragmentos de anticuerpos monoméricos diseñados mediante ingeniería genética

**Referencia al listado de secuencias**

5 Esta aplicación se ha presentado electrónicamente a través de EFS-Web e incluye un listado de secuencias enviado electrónicamente en formato .txt. El archivo .txt contiene un listado de secuencias titulado "PC071962\_SEQUENCE\_PROJECT\_FILE\_ST25.txt" creado el 7 de diciembre de 2012 y que tiene un tamaño de 173 KB. El listado de secuencias contenido en este archivo .txt forma parte de la memoria descriptiva y se incorpora en el presente documento por referencia en su totalidad.

**Campo**

10 La presente invención se refiere a fragmentos de anticuerpos monoméricos diseñados mediante ingeniería genética (por ejemplo, polipéptidos monoméricos que contienen Fc) que comprenden uno o más sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3. La invención se refiere también a procedimientos para preparar dichos fragmentos de anticuerpos monoméricos diseñados mediante ingeniería genética y a su uso en diagnóstico y terapia.

**Antecedentes**

En la década pasada se han usado anticuerpos y sustancias biológicas de fusión con Fc como moléculas terapéuticas para el tratamiento de diversas enfermedades. La mayoría de anticuerpos en el mercado son anticuerpos de longitud completa (por ejemplo, IgG) debido a sus semividas largas que permiten una dosificación menos frecuente a los pacientes. Véase, por ejemplo, Lobo y col., J. Pharm. Sci. 93, 2645-2668 (2004). Una IgG de longitud completa está compuesta por dos fragmentos Fab idénticos que están vinculados por la forma dimérica de los fragmentos Fc a través de dos regiones bisagra idénticas. Mientras que la región Fab es responsable del direccionamiento del antígeno, la región Fc de la IgG se ha implicado en el tiempo de supervivencia prolongado del anticuerpo en suero mediante la ruta de recirculación del receptor Fc neonatal (FcRn). Véase, por ejemplo, Brambell y col., Nature 203, 1352-1354 (1964) y Raghavan y col., Biochemistry 34, 14649-14657 (1995). La constante de asociación intrínseca para la unión monovalente por cada Fab se denomina normalmente como la afinidad del anticuerpo, mientras que la capacidad de unión bivalente de dos Fab en un anticuerpo IgG intacto se denomina como la avidéz del anticuerpo. En algunos casos, el equilibrio de unión aparente debido a la avidéz de la IgG puede aumentarse hasta 100 veces en comparación con la afinidad del Fab. Véase, por ejemplo, Ways y col., Biochem J216, 423-432 (1983). Con fines terapéuticos, sin embargo, la bivalencia de IgG no siempre sería necesaria o deseada. Por ejemplo, una IgG terapéutica no aprovecharía la avidéz si las dianas son moléculas solubles monoméricas. Adicionalmente, si las dianas son moléculas solubles multiméricas, la naturaleza dimerica de IgG puede dar como resultado la formación de una red reticulada en el plasma que conduce a la formación de agregados. Véase, por ejemplo, Marrack, Annu. Rev. Microbiol. 9, 369-386 (1955). Además, cuando las dianas que se van a antagonizar están sobre una superficie celular, la unión de dos dianas de la superficie celular mediante una única IgG puede dar como resultado una actividad agonista no deseada mediante reticulación o unión de las dos moléculas por el anticuerpo. Véase, por ejemplo, Prat y col., J. Cell. Sci. 111 9Pt2), 237-247 (1998). Además, algunas IgG de tamaño completo presentan una mala penetración en tejidos, especialmente tumores sólidos, y una unión mala o ausente a regiones de algunos antígenos que están ocluidas y solo pueden ser accesibles por moléculas de tamaño más pequeño. Véase, Ying y col., J. Biol. Chem. (2012). Por consiguiente, para superar los potenciales inconvenientes asociados con la bivalencia de los anticuerpos terapéuticos y las proteínas dimericas de fusión con Fc, se han explorado recientemente para diversas dianas terapéuticas anticuerpos de "un único brazo", proteínas de fusión con Fc de "un único brazo", o una variedad de fragmentos de anticuerpos de tamaño más pequeño, con el fin de mejorar la actividad biológica, la biodisponibilidad, y/o la farmacocinética de las moléculas terapéuticas. Véase, por ejemplo, Demignot y col., Cancer Res. 50, 2936-2942 (1990), y Dumont y col., BioDrugs 20, 151-160 (2006). Por lo tanto, se han descrito moléculas Fc de inmunoglobulina monomérica, anticuerpos monovalentes, y moléculas Fc de anticuerpos. Véase, por ejemplo, los documentos US2006/0074225, los documentos WO2007/059782, los documentos WO2008/145139, WO2011/005621, y WO2011/063348. A pesar del que el reconocimiento de las formas monoméricas de anticuerpos y de moléculas Fc, y las proteínas que las comprenden, proporcionaría determinadas ventajas en el desarrollo de moléculas terapéuticas, sigue existiendo una necesidad largamente sentida de anticuerpos monoméricos y proteínas de fusión que sean estables pero que no tengan inmunogenicidad aumentada o que adolezcan de otros inconvenientes de la ingeniería de proteínas requeridos para conseguir proteínas monoméricas estables.

La N-glicosilación puede alterar la estabilidad de la proteína, la susceptibilidad a la proteasa y la inmunogenicidad así como la bioactividad *in vivo* de las proteínas terapéuticas. Véase, por ejemplo, Sola y col., J. Pharm. Sci. 98, 1223-1245 (2009), y Elliott y col., Nature Biotechnology 21, 414-421 (2003). La glicosilación unida a asparagina (glicosilación unida a Asn o unida a N) es una de las formas más comunes de la modificación posterior a la traducción de las proteínas en organismos eucariotas. En general, la modificación se produce en un resto asparagina en la primera posición de la secuencia consenso de Asn-X-Ser/Thr, en donde la segunda posición, "X", es cualquier aminoácido excepto prolina y en el que la tercera posición es cualquiera de serina o treonina, de tal

manera que Asn-X-Ser y Asn-X-Thr se consideran sitios de glicosilación potencial convencionales en proteínas de mamíferos. Shakin-Eshleman y col., J. Biol. Chem. 271, 6363-6366 (1996). Los anticuerpos IgG humanos nativos tienen un N-glicano en Asn<sup>297</sup> en la región CH2 del dominio Fc. Las estructuras cristalinas de los dominios Fc han desvelado también que los hidratos de carbono se empaquetan en el espacio interno encerrado por el dominio CH2.

5 Mientras que los dominios CH2 de las dos cadenas polipeptídicas no realizan interacciones directas debido a los restos de carbohidrato, los dominios CH3 se asocian entre sí a través de una interfase hidrófoba grande. Por consiguiente, sería deseable generar una forma monomérica estable de un dominio Fc con una semivida *in vivo* prolongada y otra farmacocinética mejorada utilizando la estrategia de diseñar mediante ingeniería genética la N-glicosilación, en la que el glicano diseñado mediante ingeniería genética no solo se puede separar de la interfase  
10 CH3-CH3, sino que también puede cubrir la superficie hidrófoba expuesta del dominio CH3 para evitar la agregación y la inmunogenicidad potencial. La presente invención resuelve esta necesidad.

El documento WO2011/005621 desvela la generación de Fc estable sin agregación, a través del diseño mediante ingeniería genética de la interfase del dominio CH3 en la posición de aminoácido S364 y el uso del mismo para fines terapéuticos.

15 Ying y col., (2013) Journal of Biological Chemistry, v288, páginas 19399-19408 desvela la generación de Fc monomérico soluble, estable, capaz de unirse a FcRn mutando aleatoriamente los restos L351, T366, L368, P395, F405, K409, en CH3 de IgGf humano.

El documento WO2011/063348 desvela la generación de Fc monomérico estable mediante sustitución de los restos de la interfase hidrófoba en la región Ch3 con aminoácidos polares y sustituyendo los aminoácidos cargados con carga opuesta.  
20

El documento WO2006/031994 desvela la generación de dominios monoméricos estables de Fc.

El documento US2006/247425 desvela la generación de Fc N-glicosilado para la semivida prolongada y el uso del mismo en las proteínas de fusión con Fc para fines terapéuticos.

25 El documento WO2011/059684 desvela variantes de glicosilación de Fc unidas a N para la resistencia aumentada a las proteasas.

### Sumario

La invención desvelada en el presente documento se dirige a un polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG, en el que el dominio CH3 comprende uno o más sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3, en el  
30 que el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética se selecciona entre el grupo que consiste en a) S364N e Y407N-X-K409T; b) S364N-X-T366S e Y407N-X-K409T; c) S364N e Y407N-X-K409S; y d) S364N-X-T366S e Y407N-X-K409S, en el que X es cualquier aminoácido excepto Pro.

En una variación, la invención proporciona un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento, en el que cada polipéptido que contiene Fc tiene el mismo, o diferentes sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética, en la interfase de dimerización CH3-CH3. En algunas realizaciones, cada polipéptido que contiene Fc tiene los mismos sitios de glicosilación unidos a N en cada interfase de dimerización CH3-CH3, y en el que además, los sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética son S364N-X-T366 y Y407N-X-K409T. La memoria descriptiva desvela modificaciones de aminoácidos en la interfase de dimerización  
40 CH3-CH3 seleccionada entre el grupo que consiste en Q347N-X-Y349T, Q347N-X-Y349S, Y349N-X-L351T, Y349N-X-L351S, L351N-X-P353T, L351N-X-P353S, S354N-X-D356T, S354N-X-D356S, D356N-X-L358T, D356N-X-L358S, E357N-X-T359S, K360N-X-Q362T, K360N-X-Q362S, S364N-X-T366S, L368N-X-K370T, L368N-X-K370S, K370N-X-F372T, K370N-X-F372S, K392N-X-T394S, V397N-X-D399T, V397N-X-D399S, S400N-X-G402T, S400N-X-G402S, D401N-X-S403T, F405N-X-Y407T, F405N-X-Y407S, Y407N-X-K409T, Y407N-X-K409S, K409N-X-T411S, K439N-X-L441T, K439N-X-L441S, S444N-X-G446T y S444N-X-G446S. En otras realizaciones, las modificaciones de aminoácidos en la interfase de dimerización CH3-CH3 se seleccionan entre el grupo que consiste en S364N-X-T366S, L368N-X-K370T, L368N-X-K370S, F405N-X-Y407T, F405N-X-Y407S, Y407N-X-K409T y Y407N-X-K409S.

La memoria descriptiva desvela un polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG, en el que el dominio CH3 comprende dos sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3, en el que el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética comprende una o más modificaciones de aminoácidos que tienen una secuencia consenso de Asn-X-Ser o Asn-X-Thr, y en el que X es cualquier aminoácido excepto Pro. En una variación, la invención proporciona un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento, en el que cada polipéptido que contiene Fc tiene el mismo, o diferentes sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética, en la interfase de dimerización CH3-CH3. La memoria descriptiva desvela modificaciones de aminoácidos en la interfase de dimerización CH3-CH3 seleccionadas entre el grupo que consiste en a) S364N-X-T366 y Y407N-X-K409T; b) S364N-X-T366S e Y407N-X-K409T; c) S364N-X-T366 e Y407N-X-K409S; y d) S364N-X-  
55

T366S y Y407N-X-K409S.

En otro aspecto, la invención proporciona un polipéptido monomérico que contiene Fc o un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento, que comprende además uno o más sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase CH2-CH2. En algunas realizaciones, la modificación del aminoácido en el dominio CH2 se selecciona entre el grupo que consiste en S239N-X-F241S, S239N-X-F241T, F241N-X-243T, F241N-X-243S, E258N-X-T260, E258N-X-T260S, T260N-X-V262T, T260N-X-V262S, V262N-X-V264S, V262N-X-V264T, N286-X-K288T, K288S, K288N-K290T, K288N-X-K290S, V305N-X-T307 y V305-X-T307S.

La memoria descriptiva desvela un polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende al menos un sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética, en el que el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética comprende al menos una modificación de aminoácido seleccionada entre el grupo que consiste en E258N-X-T260S, T260N-X-V262T, T260N-X-V262S, V305N, V305N-X-T307S, Q347N-X-Y349T, Q347N-X-Y349S, S364N-X-T366S, T366N-X-L368T, T366N-X-L368S, L368N-X-K370T, L368N-X-K370S, D401N, D401N-X-S403T, F405N-X-Y407T, F405N-X-Y407S, Y407N-X-K409T, Y407N-X-K409S y K409N-X-T411S, en el que X es cualquier aminoácido excepto Pro. En una variación, la invención proporciona un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento, en el que cada polipéptido que contiene Fc tiene el mismo o diferentes sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética.

En algunas realizaciones, la región CH3 y/o CH2 es una región CH2 y/o CH3 de IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4. En algunas realizaciones, la región CH3 y/o CH2 comprende una región CH3 y/o CH2 de IgG humana (por ejemplo, la región CH3 y/o CH2 de IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4 humana).

En algunas realizaciones, el polipéptido monomérico que contiene Fc como se describe además en el presente documento comprende un Fab. En algunas realizaciones, el polipéptido monomérico que contiene Fc es una proteína de fusión con Fc. En algunas realizaciones, cada polipéptido monomérico que contiene Fc en el polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento se une de manera recombinante mediante enlace al extremo C-N o mediante un enlazador. En algunas realizaciones, el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos (GGGGs)<sub>n</sub> (SEQ ID NO: 89), en la que n=1-10.

En algunas realizaciones, el polipéptido monomérico que contiene Fc, como se describe en el presente documento, se estabiliza mediante glicosilación unido a N.

En otro aspecto, la invención proporciona un polinucleótido aislado que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido monomérico que contiene Fc como se describe en el presente documento. En algunas realizaciones, la invención proporciona un vector que comprende el polinucleótido. En algunas realizaciones, la invención proporciona una célula hospedadora que comprende el polipéptido monomérico que contiene Fc o el vector que se describe en el presente documento o una línea de células que expresa el polipéptido monomérico que contiene el Fc que se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para producir el polipéptido monomérico que contiene Fc que se describe en el presente documento que comprende la etapa de cultivar la célula hospedadora y, opcionalmente, recuperar el polipéptido. La presente invención proporciona también composiciones/formulaciones farmacéuticas que comprenden el polipéptido monomérico que contiene Fc que se describe en el presente documento.

En otro aspecto, la invención proporciona un procedimiento para tratar una dolencia, trastorno o enfermedad en un sujeto que lo necesita, comprendiendo el procedimiento administrar al sujeto una cantidad eficaz de una composición farmacéutica que comprende el polipéptido monomérico que contiene Fc que se describe en el presente documento.

### **Breve descripción de los dibujos**

La Figura 1, que comprende los paneles A y B, representa el dibujo esquemático de los restos de aminoácidos presentes en la interfase CH2-CH2 (Figura 1A) y en la interfase CH3-CH3 (Figura 1B) de los dominios CH2 y CH3 naturales del dominio Fc de la IgG humana.

La Figura 2 representa una alineación de secuencias de los dominios CH3 de los isotipos de IgG humano y de ratón. hlgG1, hlgG2, hlgG3, hlgG4, mlgG1, mlgG2A, mlgG2B, y mlgG3 que corresponden a las SEQ ID NOS: 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, y 8, respectivamente. El asterisco "\*" denota las posiciones seleccionadas lógicamente para la N-glicosilación de acuerdo con la presente invención.

La Figura 3 representa una alineación de secuencias de los dominios CH2 de los isotipos IgG humano y de ratón. hlgG1, hlgG2, hlgG3, hlgG4, mlgG1, mlgG2A, mlgG2B, y mlgG3 que corresponden a las SEQ ID NOS: 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, y 16, respectivamente. El asterisco "\*" denota los sitios de N-glicosilación potenciales de acuerdo con la presente invención.

La Figura 4 muestra una representación gráfica de la estructura cristalina obtenida de un polipéptido monomérico

que contiene Fc diseñado mediante ingeniería genética ("CH23-N364/407") que tiene las modificaciones de aminoácidos en la interfase de dimerización CH3-CH3 en S364N (S364N-L365-T366) e Y407N-X-K409T (Y407N-S408-K409T).

La Figura 5, que comprende los paneles A, B y C, representa dibujos que ilustran diversas construcciones de las variantes de polipéptidos monoméricos que contienen Fc fusionadas a un Fab. La Figura 5A representa un dibujo de un anticuerpo IgG1 intacto que muestra ambos brazos de Fab, la región bisagra, y dos dominios Fc comprendiendo cada uno un glicano Asn297 (N-297) convencional en cada CH2, en el que los glicanos se empaquetan en el espacio interno encerrado por los dominios CH2 y los dominios CH2 de dos cadenas polipeptídicas no realizan interacciones directas debido a los restos de hidratos de carbono. La Figura 5B representa un dibujo que ilustra un polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende un único Fab y que comprende el glicano Asn297 convencional en el dominio CH2 y dos sitios de glicosilación diseñados mediante ingeniería genética en el dominio CH3. La Figura 5C representa un dibujo que ilustra un polipéptido monomérico que contiene Fc en el que el polipéptido comprende dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante, en el que cada dominio Fc comprende dos sitios de glicosilación diseñados mediante ingeniería genética en cada dominio CH3 además de comprender un glicano Asn297 convencional en el dominio CH2.

La Figura 6 representa un gráfico que demuestra las características farmacocinéticas de las variantes del polipéptido monomérico que contiene Fc fusionado a un Fab procedente de un anticuerpo derivado de KLH (denominado en el presente documento "Fab-CH23" que se denomina también Fab-CH23 [N364/N407]). Los círculos rellenos denotan IgG1 humana; los cuadrados rellenos muestran la PK de Fab-CH23-HEK (Fab-CH23 [N364/N407] producido a partir del sistema de expresión transitoria de HEK293); los triángulos rellenos denotan Fab-CH23 [H310A/H433A] (variante inactivada genéticamente de FcRn); los triángulos rellenos invertidos indican Fab-CH23-HEK + manano (un inhibidor natural de los receptores de manosa); los rombos rellenos indican Fab-CH23 [N364/N407] producido a partir de la línea de células CHO estable; los círculos abiertos Fab-CH23 [M428L/N434L] (variante de potenciación de FcRn); y los cuadrados abiertos indican Fab-CH23-CH23 (un dímero o una construcción en tándem que tiene dos CH23 [N364/N407]) diseñados mediante ingeniería genética.

### **Descripción detallada**

La invención proporciona un polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG, en el que el dominio CH3 comprende uno o más sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3, en el que el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética se selecciona entre el grupo que consiste en a) S364N e Y407N-X-K409T; b) S364N-X-T366S e Y407N-X-K409T; c) S364N e Y407N-X-K409S; y d) S364N-X-T366S e Y407N-X-K409S, en el que X es cualquier aminoácido excepto Pro. Los inventores han descubierto que la incorporación de la N-glicosilación en sitio(s) específicos del polipéptido que contiene Fc puede perturbar la interfase de dimerización de CH3-CH3, enmascarar la superficie hidrófoba expuesta del dominio CH3, monomerizar un dímero de Fc, proporcionar una forma monomérica estable del dominio Fc de un anticuerpo, y/o mejorar las propiedades fisicoquímicas del monómero de Fc (por ejemplo, solubilidad y estabilidad). Además, los restos de glicano diseñados mediante ingeniería genética también podrían proteger estéricamente restos de aminoácidos mutados y enmascarar el reconocimiento inmunitario potencial o la unión de un anticuerpo dirigido contra un fármaco. El polipéptido monomérico que contiene Fc mantiene la afinidad de unión por el receptor de Fc neonatal (FcRn) de una manera dependiente del pH. Una vez provisto de la divulgación proporcionada en el presente documento, el técnico experto apreciaría que la estructura monomérica cristalina del polipéptido que contiene el Fc proporciona el fundamento de la estabilización por carbohidratos así como para el reconocimiento molecular para la recirculación mediada por FcRn. Los datos desvelados en el presente documento demuestran además que el polipéptido monomérico que contiene Fc prolonga también la semivida *in vivo* de un dominio del anticuerpo Fab. Los inventores han descubierto además que un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante, estabilizado cada uno por uno o más sitio(s) de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3 hidrófoba o tanto en la interfase de dimerización CH3-CH3 hidrófoba como en la interfase CH2-CH2, tiene mayor afinidad por FcRn y una semivida más larga que el mismo polipéptido en ausencia de los sitio(s) de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética. Sin desear quedar ligado a teoría alguna, la afinidad aumentada demostrada por el polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento puede ser debida al retraso de la disociación del polipéptido procedente de FcRn en el endosoma a pH ácido, lo que evita que el polipéptido entre en una vía de degradación en el lisosoma.

### **Técnicas y definiciones generales**

A menos que se defina lo contrario en el presente documento, los términos científicos y técnicos usados en conexión con la presente invención deben tener los significados que se entienden comúnmente por aquellos expertos en la técnica. Además, a menos que se requiere lo contrario por contexto, los términos en singular incluyen pluralidades y los términos en plural incluyen el singular. Generalmente, la nomenclatura utilizada vinculada con, y las técnicas de, cultivo de células y tejidos, biología molecular, inmunología, microbiología, genética y química de proteínas y de ácidos nucleicos y de hibridación descritas en el presente documento son aquellas bien conocidas y habitualmente utilizadas en la materia.

Los procedimientos y técnicas de la presente invención se llevan a cabo generalmente de acuerdo con los procedimientos convencionales bien conocidos en la técnica y según se describen en diversas referencias generales y más específicas que se citan y describen en la totalidad de la presente memoria descriptiva salvo que se indique otra cosa. Véase, por ejemplo, Sambrook J. & Russell D. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 3ª ed., Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (2000); Ausubel y col., *Short Protocols in Molecular Biology: A Compendium of Methods from Current Protocols in Molecular Biology*, Wiley, John & Sons, Inc. (2002); Harlow and Lane *Using Antibodies: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, N.Y. (1998); y Coligan y col., *Short Protocols in Protein Science*, Wiley, John & Sons, Inc. (2003). Las reacciones enzimáticas y las técnicas de purificación se llevan a cabo de acuerdo con las especificaciones del fabricante, como comúnmente se realizan en la técnica o como se describen en el presente documento. La nomenclatura utilizada vinculada con, y los procedimientos de laboratorio y las técnicas de, biología molecular, bioquímica, inmunología, química analítica, química orgánica sintética, y la química médica y farmacéutica descritas en el presente documento son aquellas bien conocidas y comúnmente utilizadas en la materia. A lo largo de la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones, la palabra "comprende", o variaciones tales como "comprenden" o "que comprende", se entenderá que implican la inclusión de un número entero o grupo de números enteros indicados pero no la exclusión de cualquier otro entero o grupo de enteros.

Los términos "polipéptido", "péptido" y "proteína" se utilizan de manera indistinta en el presente documento para referirse a las cadenas de aminoácidos de cualquier longitud, preferentemente, relativamente cortas (por ejemplo, 10-100 aminoácidos). La cadena puede ser lineal o ramificada, puede comprender aminoácidos modificados y puede estar interrumpida por no aminoácidos. Los términos abarcan también una cadena de aminoácidos que se ha modificado naturalmente o mediante intervención; por ejemplo, formación de enlace disulfuro, glicosilación, lipidación, acetilación, fosforilación o cualquier otra manipulación o modificación, tal como conjugación con un componente marcador. También se encuentran incluidos dentro de la definición, por ejemplo, los polipéptidos que contienen uno o más análogos de un aminoácido (que incluye, por ejemplo, aminoácidos no naturales, etc.), así como otras modificaciones conocidas en la técnica. Se entiende que los polipéptidos pueden producirse como cadenas individuales o cadenas asociadas.

La expresión "polipéptido que contiene Fc" como se usa en el presente documento, se refiere a un polipéptido (por ejemplo, un anticuerpo o una inmunoadhesina), que comprende las secuencias polipeptídicas del extremo carboxilo de una cadena pesada de inmunoglobulina. El polipéptido que contiene Fc puede comprender regiones de Fc naturales o variantes (es decir, secuencias). La región Fc de una inmunoglobulina comprende generalmente dos dominios constantes, un dominio CH2 y un dominio CH3, y comprende opcionalmente un dominio CH4. Un polipéptido que contiene Fc puede comprender todo o parte de una secuencia bisagra natural (generalmente en su extremo amino). Un polipéptido que contiene Fc puede obtenerse o derivarse a partir de cualquier inmunoglobulina adecuada, tal como de al menos una de los diversos subtipos IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4, o de IgA, IgE, IgD o IgM. Los límites de la región Fc de una cadena pesada de inmunoglobulina pueden variar, por ejemplo, la región Fc de la cadena pesada de IgG se define usualmente para extenderse desde un resto de aminoácido en la posición Glu216 o de Ala231, hasta el extremo carboxilo del mismo. La numeración de los restos en la región Fc es la del índice UE como en Kabat. Kabat y col., *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, 5ª Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md., 1991.

Por "sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética" como se usa en el presente documento, se entiende un sitio de glicosilación que se ha introducido en una secuencia de proteínas donde no había sitio de glicosilación unido a N en la secuencia de aminoácidos natural. Es decir, un sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética abarca el punto donde una secuencia de glicosilación unida a N convencional, es decir, N-X-S o T, en la que X es cualquier aminoácido excepto prolina, se introduce en una proteína donde no estaba presente dicha secuencia. En una realización, una sustitución de aminoácido que sustituye un aminoácido en la posición uno de la N-X-S o T, con N crea un sitio de glicosilación donde el segundo resto de aminoácido no es prolina y en el que además el tercer resto de aminoácido es ya un resto serina o un resto treonina. En otra realización, el primer aminoácido es ya una asparagina, el segundo aminoácido no es prolina, de tal manera que solo el tercer aminoácido debe ser sustituido por serina o treonina. En otra realización más, el primer resto de aminoácido debe ser sustituido por una arginina, el segundo aminoácido no es prolina y no necesita, pero puede estar, sustituido por otro aminoácido no prolina, y el tercer resto de aminoácido se sustituye por una serina o una treonina. En otra realización, el tercer aminoácido puede ser serina y se sustituye por treonina, o viceversa. Cualquier permutación de los anteriores está abarcada por la presente invención.

La expresión "unido de forma recombinante" como se usa en el presente documento se refiere a un enlace de múltiples proteínas o péptidos (por ejemplo, polipéptido monomérico que contiene Fc) como una cadena polipeptídica. El enlace de múltiples proteínas o péptidos (por ejemplo, polipéptido monomérico que contiene Fc) puede realizarse directamente mediante el extremo carboxilo o amino de la proteína/péptido. El enlace de múltiples proteínas o péptidos (por ejemplo, polipéptido monomérico que contiene Fc) puede realizarse indirectamente mediante un separador polipeptídico no funcional tal como una extensión de glicina y serina. Se pueden expresar múltiples proteínas de forma recombinante a partir de un único ácido nucleico para proporcionar proteínas de fusión que comprenden múltiples polipéptidos como una cadena polipeptídica. Como alternativa, cada polipéptido puede unirse químicamente, a través de una conjugación química del extremo carboxilo-amino (C-N), para proporcionar proteínas de fusión que comprenden múltiples polipéptidos. Ambos procedimientos proporcionan proteínas "unidas

de forma recombinante" como se usa en el presente documento.

Un "anticuerpo" es una molécula de inmunoglobulina capaz de unirse de forma específica a una diana, tal como un hidrato de carbono, polinucleótido, lípido, polipéptido, etc., a través de al menos un sitio de reconocimiento de antígeno, localizado en la región variable de la molécula de inmunoglobulina. Como se usa en el presente documento, el término abarca no solo los anticuerpos policlonales o monoclonales intactos, sino también, a menos que se indique otra cosa, cualquier porción de unión a antígeno del mismo que compita con el anticuerpo intacto por la unión específica, proteínas de fusión que comprenden una porción de unión a antígeno, y cualquier otra configuración modificada de la molécula de inmunoglobulina que comprende un sitio de reconocimiento del antígeno. Las porciones de unión a antígeno incluyen, por ejemplo, Fab, Fab', F(ab')<sub>2</sub>, Fd, Fv, anticuerpos de dominio (dAb, por ejemplo, anticuerpos de tiburón y camélido), fragmentos que incluyen regiones determinantes de la complementariedad (CDR), anticuerpos de fragmentos variables monocatenarios (scFv), maxicuerpos, minicuerpos, intracuerpos, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos, v-NAR y bis-scFv, y los polipéptidos que contienen al menos una porción de una inmunoglobulina que es suficiente para conferir unión específica de antígeno al polipéptido. Un anticuerpo incluye un anticuerpo de cualquier clase, tal como IgG, IgA, o IgM (o una subclase del mismo), y el anticuerpo no necesita ser de alguna clase concreta. Dependiendo de la secuencia de aminoácidos del anticuerpo de la región constante de sus cadenas pesadas, las inmunoglobulinas pueden asignarse a diferentes clases. Existen cinco clases principales de inmunoglobulinas: IgA, IgD, IgE, IgG, e IgM, y varias de estas clases se puede dividir adicionalmente en subclases (isotipos), por ejemplo, IgG1, IgG2, IgG3, IgG4, IgA1 e IgA2. Las regiones constantes de cadena pesada que se corresponden con las diferentes clases de inmunoglobulinas se denominan alfa, delta, épsilon, gamma, y mu, respectivamente. Las estructuras de las subunidades y las configuraciones tridimensionales de las diferentes clases de inmunoglobulinas son bien conocidas.

"Fragmentos de anticuerpos" comprenden solo una porción de un anticuerpo intacto, en el que la porción retiene preferentemente al menos una, preferentemente la mayoría o todas, las funciones normalmente asociadas con esta porción cuando está presente en un anticuerpo intacto.

Un "fragmento Fab" está comprendido por una cadena ligera y las regiones CH1 y variables de una cadena pesada. La cadena pesada de una molécula Fab no puede formar un enlace disulfuro con otra molécula de la cadena pesada.

Las designaciones de los restos en esta solicitud se basan en el esquema de numeración de la UE de Kabat (Kabat y col., 1991, Sequences of Proteins of Immunological Interest, National Institutes of Health, Bethesda, Md., ed. 5).

Un "anticuerpo bivalente" comprende dos sitios de unión a antígeno por molécula (por ejemplo, IgG). En algunos casos, los dos sitios de unión tienen las mismas especificidades del antígeno. Sin embargo, los anticuerpos bivalentes pueden ser biespecíficos.

Un "anticuerpo monovalente" o un "anticuerpo monomérico" comprende un sitio de unión a antígeno por molécula (por ejemplo, IgG). En algunos casos, un anticuerpo monovalente o un anticuerpo monomérico puede tener más de un sitio de unión a antígeno, pero los sitios de unión son de diferentes antígenos.

Un "anticuerpo multiespecífico" es uno que se dirige a más de un antígeno o epítipo. Un anticuerpo "bienespecífico" "doblemente específico" o "bifuncional" es un anticuerpo híbrido que tiene dos sitios de unión a antígeno diferentes. Los anticuerpos biespecíficos son una especie de anticuerpo multiespecífico y se pueden producir mediante una variedad de procedimientos que incluyen, aunque no de forma limitativa, fusión de hibridomas o unión de fragmentos Fab'. Véase, por ejemplo, Songsivilai y Lachmann (1990), Clin. Exp. Immunol. 79:315-321; y Kostelny y col. (1992), J. Immunol. 148:1547-1553. Los dos sitios de unión de un anticuerpo biespecífico se unirán a dos epítopos diferentes, que pueden residir sobre las mismas dianas de proteínas o diferentes.

El término "anticuerpo monoclonal" tal como se usa en el presente documento se refiere a un anticuerpo obtenido a partir de una población de anticuerpos sustancialmente homogénea, es decir, los anticuerpos individuales que comprenden la población son idénticos salvo por posibles mutaciones que se producen naturalmente que pueden estar presentes en cantidades menores. Los anticuerpos monoclonales son muy específicos, dirigiéndose contra un único antígeno. Además, a diferencia de las preparaciones de anticuerpos policlonales que de forma típica incluyen diferentes anticuerpos dirigidos contra diferentes determinantes (epítopos), cada anticuerpo monoclonal se dirige contra un único determinante en el antígeno.

Los anticuerpos monoclonales del presente documento pueden, en determinadas realizaciones, incluir específicamente anticuerpos "quiméricos" en los que una porción de la cadena pesada y/o ligera es idéntica a, u homóloga a las secuencias correspondientes en los anticuerpos derivadas de una especie concreta o que pertenecen a una clase o subclase concreta de anticuerpo, mientras que el(los) resto(s) de la(s) cadena(s) es(son) idéntico(s) a las secuencias correspondientes en los anticuerpos derivados de otras especies o que pertenecen a otra clase o subclase de anticuerpo, así como los fragmentos de dichos anticuerpos, siempre que presenten la actividad biológica deseada (patente de Estados Unidos n.º 4.816.567; y Morrison y col., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:6851-6855 (1984)).

Las formas "humanizadas" de anticuerpos no humanos (por ejemplo, murinos) son anticuerpos quiméricos que

contienen la secuencia derivada de inmunoglobulina no humana. Para la mayor parte, los anticuerpos humanizados son inmunoglobulinas humanas (anticuerpo receptor) en donde los restos de la región hipervariable del receptor se sustituyen por restos de la región hipervariable de una especie no humana (anticuerpo donante), tal como un ratón, rata, conejo o un primate no humano que tienen la especificidad, afinidad, y capacidad deseadas. En algunos casos, los restos de la región marco (FR) de la inmunoglobulina humana se sustituyen por los restos no humanos correspondientes. Los anticuerpos humanizados pueden, además, comprender restos que no se encuentran en el anticuerpo receptor o en el anticuerpo donante. Estas modificaciones se efectúan para refinar adicionalmente el rendimiento del anticuerpo. En general, el anticuerpo humanizado comprenderá sustancialmente todo de al menos uno, y normalmente dos, dominios variables, en el que todos o sustancialmente todos los bucles hipervariables corresponden a aquellos de una inmunoglobulina no humana y todas o sustancialmente todas las regiones FR son aquellas de una secuencia de la inmunoglobulina humana. El anticuerpo humanizado también comprenderá de manera opcional al menos una porción de la región constante de inmunoglobulina (Fc), normalmente la de una inmunoglobulina humana. Para detalles adicionales, véanse Jones y col., *Nature* 321:522-525 (1986); Riechmann y col., *Nature* 332:323-329 (1988); y Presta, *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2:593-596 (1992). Véanse también los siguientes artículos de revisión y las referencias citadas en los anteriores: Vaswani y Hamilton, *Ann. Allergy, Asthma & Immunol.* 1:105-115 (1998); Harris, *Biochem. Soc. Transactions* 23:1035-1038 (1995); Hurlle y Gross, *Curr. Opin. Biotech.* 5:428-433 (1994).

Un "anticuerpo humano" es un anticuerpo que posee una secuencia de aminoácidos que se corresponde con la de un anticuerpo producido por un ser humano y/o que se ha preparado utilizando cualquiera de las técnicas para preparar anticuerpos humanos que se describen en el presente documento. Esta definición de un anticuerpo humano excluye específicamente a un anticuerpo humanizado que comprende restos de unión a antígeno no humanos.

Como se usa en el presente documento, el término "inmunoadesina" designa moléculas similares a un anticuerpo o similares a una inmunoglobulina que combinan el "dominio de unión" de una proteína heteróloga (una "adesina", por ejemplo, un receptor, ligando o enzima) con el componente efector de los dominios constantes de inmunoglobulina. Estructuralmente, las inmunoadesinas comprenden una fusión de la secuencia de aminoácidos de la adhesina con la especificidad de unión deseada que es diferente de la del reconocimiento del antígeno y el sitio de unión (sitio de combinación a antígeno) de un anticuerpo (es decir, es "heterólogo") y una secuencia del dominio constante de inmunoglobulina. La secuencia del dominio constante de inmunoglobulina en la inmunoadesina puede obtenerse de cualquier inmunoglobulina, tal como los subtipos IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, IgA, IgE, IgD o IgM.

Por "proteína de fusión de Fc", como se usa en el presente documento, se entiende una proteína en la que uno o más polipéptidos están unidos operativamente a un polipéptido Fc (por ejemplo, un polipéptido monomérico que contiene Fc, como se describe en el presente documento). Una fusión Fc combina la región Fc de una inmunoglobulina (por ejemplo, un polipéptido monomérico que contiene Fc como se describe en el presente documento) con un ligando, que en general puede ser cualquier proteína, polipéptido, o molécula pequeña. Virtualmente, cualquier proteína o molécula pequeña puede unirse a Fc para generar una fusión Fc. Los ligandos de las proteínas pueden incluir, aunque no de forma limitativa, la región de unión a diana de un receptor, una molécula de adhesión, un ligando, una enzima, una citoquina, una quimioquina, o alguna proteína o dominio de proteína diferente. Los ligandos de moléculas pequeñas pueden incluir cualquier agente terapéutico que dirija la fusión de Fc a un agente terapéutico. Dichas dianas pueden ser cualquier molécula, por ejemplo, sin limitación, un receptor extracelular que está implicado en la enfermedad.

La "región bisagra", la "secuencia bisagra", y variaciones de la misma, como se usa en el presente documento, incluyen el significado conocido en la materia, que se ilustra en, por ejemplo, Janeway y col., *ImmunoBiology: the immune system in health and disease*, (Elsevier Science Ltd., NY) (4ª ed., 1999); Bloom y col., *Protein Science* (1997), 6:407-415; Humphreys y col., *J. Immunol. Methods* (1997), 209:193-202.

Se pretende que el término "vector", como se usa en el presente documento, se refiera a una molécula de ácido nucleico capaz de transportar otro ácido nucleico al cual se ha unido. Un tipo de vector es un "plásmido", que se refiere a un bucle de ADN bicatenario circular en el que pueden estar ligados segmentos de ADN adicionales. Otro tipo de vector es un vector de fago. Otro tipo de vector es un vector vírico, en el que pueden estar ligados segmentos de ADN adicionales en el genoma vírico. Determinados vectores son capaces de replicación autónoma en una célula hospedadora en la que se introducen (por ejemplo, vectores bacterianos que tienen un origen de replicación bacteriano y vectores episómicos de mamíferos). Otros vectores (por ejemplo, vectores no episómicos de mamíferos) pueden integrarse en el genoma de una célula hospedadora tras la introducción en la célula hospedadora, y por tanto, se replican junto con el genoma hospedador. Además, determinados vectores son capaces de dirigir la expresión de genes a los cuales está unidos operativamente. Dichos vectores se denominan en el presente documento "vectores de expresión recombinante" (o simplemente, "vectores recombinantes"). En general, los vectores de expresión de utilidad en las técnicas de ADN recombinante están a menudo en la forma de plásmidos. En la presente memoria descriptiva, "plásmido" y "vector" pueden usarse de manera indistinta ya que el plásmido es la forma más comúnmente utilizada de vector.

"Polinucleótido" o "molécula de ácido nucleico", que puede utilizarse de manera indistinta en el presente documento, se refiere a una forma polimérica, posiblemente aislada, de nucleósidos o nucleótidos de al menos 10 bases de



longitud. El término incluye formas monocatenarias y bicatenarias. Los nucleótidos pueden ser desoxirribonucleótidos, ribonucleótidos, nucleótidos o bases modificados, y/o sus análogos, o cualquier sustrato que se pueda incorporar a un polímero mediante ADN polimerasa o ARN polimerasa, o mediante una reacción sintética.

5 Un polinucleótido puede comprender nucleótidos modificados, tal como nucleótidos metilados y sus análogos. Si está presente, la modificación en la estructura del nucleótido puede transmitirse antes o después del ensamblaje del polímero. La secuencia de nucleótidos puede estar interrumpida por componentes no nucleótidos. Un polinucleótido puede modificarse adicionalmente después de la síntesis, tal como mediante conjugación con un marcador. Otros tipos de modificaciones incluyen, por ejemplo, "protecciones", sustitución de uno o más de los nucleótidos que se producen naturalmente con un análogo, modificaciones internucleótidos tales como, por ejemplo, aquellas con enlaces no cargados (por ejemplo, metil fosfonatos, fosfotriésteres, fosfoamidatos, carbamatos, etc.) y con enlaces cargados (por ejemplo, fosforotioatos, fosforoditioatos, etc.), aquellos que contienen restos pendientes, tales como, por ejemplo, proteínas (por ejemplo, nucleasas, toxinas, anticuerpos, péptidos señal, poli-L-lisina, etc.), aquellos con intercaladores (por ejemplo, acridina, psoraleno, etc.), aquellos que contienen quelantes (por ejemplo, metales, metales radioactivos, boro, metales oxidativos, etc.), aquellos que contienen alquilantes, aquellos con enlaces modificados (por ejemplo, ácidos nucleicos alfa anoméricos, etc.), así como las formas no modificadas de los polinucleótido(s). Además, cualquiera de los grupos hidroxilo ordinariamente presentes en los azúcares puede estar sustituido, por ejemplo, por grupos fosfonato, grupos fosfato, protegido por grupos protectores normalizados, o activado para preparar enlaces adicionales a nucleótidos, o puede estar conjugado a soportes sólidos o semisólidos. El OH 5' y 3' del extremo puede estar fosforilado o sustituido con aminas o restos de grupos protectores orgánicos de entre 1 a 20 átomos de carbono. Se pueden derivatizar también otros hidroxilos a grupos protectores normalizados. Los polinucleótidos pueden contener también formas análogas de azúcares de ribosa o desoxirribosa que se conocen generalmente en la técnica, incluyendo, por ejemplo, 2'-O-metilo-, 2'-O-alilo-, 2'-fluoro- o 2'-azido-ribosa, análogos de azúcares carbocíclicos, azúcares alfa anoméricos, azúcares epiméricos tales como arabinosa, xilosas o lixosas, azúcares de piranosa, azúcares de furanosa, sedoheptulosas, análogos acíclicos y análogos de nucleósidos abásicos tales como metil ribósido. Uno o más enlaces fosfodiéster pueden estar sustituidos por grupos enlazantes alternativos. Estos grupos enlazantes alternativos incluyen, aunque no de forma limitativa, realizaciones en las que el fosfato está sustituido por P(O)S("tioato"), P(S)S("ditioato"), "(O)NR<sub>2</sub>("amidato"), P(O)R, P(O)OR', CO o CH<sub>2</sub>("formacetal"), en el que cada R o R' es, de forma independiente H o alquilo sustituido o no sustituido (C 1-20) que contiene opcionalmente un enlace éter (--O--), arilo, alqueno, cicloalquilo, cicloalqueno o araldilo. No todos los enlaces de un polinucleótido deben ser idénticos. La descripción precedente se aplica a todos los polinucleótidos referidos en el presente documento, incluyendo ARN y ADN.

"Oligonucleótido", como se usa en el presente documento, generalmente se refiere a polinucleótidos cortos, generalmente monocatenarios, generalmente polinucleótidos sintéticos que tienen normalmente, pero no necesariamente, menos de aproximadamente 200 nucleótidos de longitud. Los términos "oligonucleótido" y "polinucleótido" no son mutuamente exclusivos. La descripción anterior de los polinucleótidos es igual y completamente aplicable a los oligonucleótidos.

Una referencia a una secuencia de nucleótidos como se usa en el presente documento abarca su complemento a menos que se especifique otra cosa. Por lo tanto, una referencia a un ácido nucleico que tiene una secuencia concreta debe entenderse que abarca su hebra complementaria, con su secuencia complementaria, a menos que el contexto defina otra cosa.

Una "célula hospedadora" incluye una célula o cultivo de células individuales que puede ser o ha sido un receptor de vector(es) para la incorporación de inserciones de polinucleótidos. Las células hospedadoras incluyen la progenie de una única célula hospedadora, y la progenie puede no ser de forma necesaria completamente idéntica (en morfología o en el complemento del ADN genómico) a la célula precursora original debido a una mutación natural, accidental, o deliberada. Una célula hospedadora incluye células transfectadas in vivo con polinucleótido(s) de la presente invención.

Un "individuo" o un "sujeto" es un mamífero, más preferentemente, un ser humano. Los mamíferos incluyen también, aunque no de forma limitativa, animales de granja, animales de competición, mascotas, primates, caballos, perros, gatos, ratones y ratas.

50 Como se usa en el presente documento, "transportador farmacéuticamente aceptable" o "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye cualquier material que, cuando se combina con un principio activo, permite al principio retener la actividad biológica y no reacciona con el sistema inmunitario del sujeto. Los ejemplos incluyen, aunque no de forma limitativa, cualquiera de los transportadores farmacéuticos convencionales tales como una solución salina tamponada con fosfato, agua, emulsiones tales como una emulsión de aceite/agua, y diversos tipos de agentes humectantes. Los diluyentes preferidos para administración en aerosol o parenteral so solución salina tamponada con fosfato (PBS) o solución salina normal (0,9%). Las composiciones que comprenden dichos transportadores se formulan mediante procedimientos convencionales bien conocidos (véase, por ejemplo, Remington's Pharmaceutical Sciences, 18<sup>a</sup> edición, A. Gennaro, ed., Mack Publishing Co., Easton, PA, 1990; y Remington, The Science and Practice of Pharmacy 21<sup>a</sup> Ed. Mack Publishing, 2005).

60 Tal como se utiliza en la técnica, "Receptor de Fc" y "FcR" describe un receptor que se une a la región Fc de un

anticuerpo. El FcR preferido es una secuencia natural de la FcR humana. Además, un FcR preferido es uno que se une a un anticuerpo IgG (un receptor gamma) e incluye receptores de las subclases FcyRI, FcyRII, y FcyRIII, incluyendo las variantes alélicas y las formas de corte y empalme alternativas de estos receptores. Los receptores de FcyRII incluyen FcyRIIA (un "receptor de activación") y FcyRIIB (un "receptor de inhibición"), que tienen secuencias de aminoácidos similares que difieren principalmente en los dominios citoplásmicos de las mismas. Los FcR se revisaron en Ravetch y Kinet, *Ann. Rev. Immunol.*, 9:457-92, 1991; Capel y col., *Immunomethods*, 4:25-34, 1994; y de Haas y col., *J. Lab. Clin. Med.*, 126:330-41, 1995. "FcR" incluye también el receptor neonatal, FcRn, que es responsable de la transferencia de las IgG de la madre al feto (Guyer y col., *J. Immunol.*, 117:587, 1976; y Kim y col., *J. Immunol.*, 24:249, 1994).

Una "región Fc funcional" posee al menos una función efectora de una región Fc de la secuencia natural. Las "funciones efectoras" ilustrativas incluyen la unión a C1q; citotoxicidad dependiente del complemento; unión al receptor Fc; citotoxicidad mediada por célula dependiente de anticuerpo; fagocitosis; regulación por defecto de receptores de la superficie celular (por ejemplo, receptor de linfocitos B), etc. Dichas funciones efectoras requieren generalmente que la región Fc se combine con un dominio de unión (por ejemplo, un dominio variable de anticuerpo) y se puede evaluar utilizando diversos ensayos conocidos en la técnica para evaluar dichas funciones efectoras del anticuerpo.

Las referencias a "aproximadamente" un valor o parámetro en el presente documento incluyen (y describen) realizaciones que se dirigen a esta valor o parámetro *per se*. Por ejemplo, la descripción que se refiere a "aproximadamente X" incluye la descripción de "X". Los intervalos numéricos son inclusive de los números que definen el intervalo. "Sobre" o "aproximadamente", cuando se usan vinculados a una variable numérica mensurable, se refieren al valor indicado de la variable y a todos los valores de la variable que están comprendidos en el error experimental del valor indicado (por ejemplo, en el intervalo de confianza del 95% para la media) o en un 10 por ciento del valor indicado, el que sea mayor.

Se entiende que donde quiera que se describan las realizaciones en el presente documento con la terminología "que comprende", se proporcionan también por lo demás realizaciones análogas descritas en términos de "consiste de" y/o "consiste esencialmente de".

Cuando aspectos o realizaciones de la invención se describen en términos de un grupo Markush u otra agrupación de alternativas, la presente invención abarca no solo el grupo completo relacionado como un completo, sino cada miembro del grupo individualmente y todos los posibles subgrupos del grupo principal, pero también el grupo en el que están ausentes uno o más de los miembros del grupo. La presente invención también prevé la exclusión explícita de uno o más de cualquiera de los miembros del grupo en la invención reivindicada.

A menos que se defina de otro modo, todos los términos técnicos y científicos utilizados en el presente documento tienen el mismo significado que el que entiende comúnmente una persona normalmente experta en la técnica a la cual pertenece la presente invención. Se describen en el presente documento procedimientos y materiales ilustrativos, Aunque se pueden usar procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o el ensayo de la presente invención. Todas las publicaciones y otras referencias mencionadas en el presente documento se incorporan por referencia en su totalidad. En caso de conflicto, la presente memoria descriptiva, incluyendo las definiciones, establecerá el control. Aunque se citan numerosos documentos en el presente documento, esta cita no constituye un reconocimiento de que alguno de estos documentos forme parte del conocimiento general común de la técnica. A lo largo de la presente memoria descriptiva y las reivindicaciones, la palabra "comprende", o variaciones tales como "comprenden" o "que comprende" se entenderá que implican la inclusión de un número entero o grupo de números enteros indicados pero no la exclusión de cualquier otro entero o grupo de enteros. a menos que se requiere lo contrario por contexto, los términos en singular incluyen pluralidades y los términos en plural incluyen el singular.

Se describen en el presente documento procedimientos y materiales ilustrativos, Aunque se pueden usar procedimientos y materiales similares o equivalentes a los descritos en el presente documento en la práctica o el ensayo de la presente invención. Los materiales, procedimientos, y ejemplos son solo ilustrativos y no se pretende que sean limitantes.

#### **POLIPÉPTIDOS MONOMÉRICOS QUE CONTIENEN Fc**

La memoria descriptiva desvela un polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG, en el que el dominio CH3 comprende uno o más sitio(s) de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3, en el que el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética comprende al menos una modificación de aminoácido para proporcionar la secuencia consenso de Asn-X-Ser o Asn-X-Thr, en la que X es cualquier aminoácido excepto Pro.

Cualquier aminoácido excepto Pro, como se usa en el presente documento, incluye un resto de aminoácido que se produce naturalmente tal como Met, Ala, Val, Leu, Ile, Cys, Ser, Thr, Asn, Gln, Asp, Glu, Lys, Arg, Gly, Trp, Tyr, Phe, e His. En algunos aspectos, X es cualquier aminoácido excepto prolina o cisteína. En algunos aspectos, X se selecciona entre el grupo que consiste en G, A, I, L, V, M, F, W, S, T, C, Y, N, Q, D, E, K, R, y H. En algunos

aspectos, X se selecciona entre el grupo que consiste en G, A, I, L, V, M, F, W, S, T, Y, N, Q, D, E, K, R, y H. En algunos aspectos, X es G. En algunos aspectos, X es A. En algunos aspectos, X es I. En algunos aspectos, X es L. En algunos aspectos, X es V. En algunos aspectos, X es M. En algunos aspectos, X es F. En algunos aspectos, X es W. En algunos aspectos, X es S. En algunos aspectos, X es T.

5 En algunos aspectos, X es C. En algunos aspectos, X es Y. En algunos aspectos, X es N. En algunos aspectos, X es Q. En algunos aspectos, X es D. En algunos aspectos, X es E. En algunos aspectos, X es K. En algunos aspectos, X es R. En algunos aspectos, X es H. Lo anterior se aplica a todas las referencias de X en la memoria descriptiva, salvo cuando se indica expresamente de otra forma o se encuentra técnicamente prohibido.

10 El procedimiento utilizado para determinar dónde incorporar sitios de glicosilación unidos a N (Asn-X-Ser o Asn-X-Thr) en la interfase de dimerización CH3-CH3 hidrófoba (véase la Figura 1) se describe en el Ejemplo 1 e incluye lo siguiente: 1) identificar los restos localizados en la interfase de dimerización CH3-CH3 basándose en la estructura cristalina (por ejemplo, gamma 1 Fc humana) y calcular el porcentaje de superficie accesible (% de ASA) de cada resto en el dímero Fc y en una cadena del dímero Fc (monómero Fc teórico ya que, según el mejor conocimiento de los inventores, no se ha derivado la estructura monomérica cristalina del Fc antes de la presente invención); 2) evitar la mutagénesis de los restos de aminoácidos que juegan un papel importante en mantener el marco estructural de la proteína (por ejemplo, restos prolina, glicina, y cisteína); 3) incorporar la secuencia consenso de Asn-X-Ser o Asn-X-Thr a los restos de aminoácidos identificados en la interfase de dimerización CH3-CH3, en la que X es cualquier aminoácido excepto Pro; y 4) inspeccionar manualmente los restos de aminoácidos cartografiados en la estructura tridimensional de una cadena del dominio Fc, y eliminar las posiciones donde el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética pueda tener poco impacto para separar la interfase CH3-CH3 (por ejemplo, Leu256 y 276Asp).

15 La memoria descriptiva desvela modificaciones de aminoácidos en la interfase de dimerización CH3-CH3 seleccionada entre el grupo que consiste en Q347N-X-Y349T, Q347N-X-Y349S, Y349N-X-L351T, Y349N-X-L351S, L351N-X-P353T, L351N-X-P353S, S354N-X-D356T, S354N-X-D356S, D356N-X-L358T, D356N-X-L358S, E357N-X-T359S, K360N-X-Q362T, K360N-X-Q362S, S364N-X-T366S, L368N-X-K370T, L368N-X-K370S, K370N-X-F372T, K370N-X-F372S, K392N-X-T394S, V397N-X-D399T, V397N-X-D399S, S400N-X-G402T, S400N-X-G402S, D401N-X-S403T, F405N-X-Y407T, F405N-X-Y407S, Y407N-X-K409T, Y407N-X-K409S, K409N-X-T411S, K439N-X-L441T, K439N-X-L441S, S444N-X-G446T y S444N-X-G446S, en la que X es cualquier aminoácido excepto Pro.

25 En algunas realizaciones, las modificaciones de aminoácidos en la interfase de dimerización CH3-CH3 se seleccionan entre el grupo que consiste en S364N-X-T366S, L368N-X-K370T, L368N-X-K370S, F405N-X-Y407T, F405N-X-Y407S, Y407N-X-K409T y Y407N-X-K409S. En algunas realizaciones, la modificación del aminoácido en la interfase de dimerización CH3-CH3 es S364N-X-T366S, Y407N-X-K409T o Y407N-X-K409S.

30 En algunas realizaciones, la región CH3 es una región CH3 de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. En algunas realizaciones, la región CH3 comprende una región CH3 de IgG humana (por ejemplo, la región CH3 y/o CH2 de IgG1, IgG2, IgG3, o IgG4 humana). Los ejemplos del polipéptido monomérico que contiene Fc que se describen en el presente documento se proporcionan en las SEQ ID NOS: 17-52.

35 En otro aspecto, la invención proporciona también un polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG, en el que el dominio CH3 comprende dos sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3, en el que el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética comprende una o más modificaciones de aminoácidos que tienen una secuencia consenso de Asn-X-Ser o Asn-X-Thr, y en el que X es cualquier aminoácido excepto Pro.

40 Por consiguiente, en algunas realizaciones, las modificaciones de aminoácidos en la interfase de dimerización CH3-CH3 se seleccionan entre el grupo que consiste en a) S364N Y407N-X-K409T; b) S364N-X-T366S e Y407N-X-K409T; c) S364N e Y407N-X-K409S; y d) S364N-X-T366S y Y407N-X-K409S. Los polipéptidos monoméricos que contienen Fc ilustrativos de la invención comprenden dos sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética se proporcionan en las SEQ ID NOS: 53-58.

45 En otro aspecto, la invención comprende además uno o más sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase CH2-CH2, en el que el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética comprende una o más modificaciones de aminoácidos que tienen una secuencia consenso de Asn-X-Ser o Asn-X-Thr, y en el que X es cualquier aminoácido excepto Pro. En algunas realizaciones, la modificación del aminoácido en el dominio CH2 se selecciona entre el grupo que consiste en S239N-X-F241S, S239N-X-F241T, F241N-X-F243T, F241N-X-F243S, E258N, E258N-X-T260S, T260N-X-V262T, T260N-X-V262S, V262N-X-V264S, V262N-X-V264T, K288T, K288S, K288N-K290T, K288N-K290S, V305N y V305-X-T307S. En otras realizaciones, la modificación del aminoácido en el dominio CH2 se selecciona entre el grupo que consiste en E258N, E258N-X-T260S, T260N-X-V262T, T260N-X-V262S, K288T, K288S, V305N y V305-X-T307S. Los ejemplos del polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende los sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3 y la interfase CH2-CH2 se proporcionan en las SEQ ID NOS: 59-66.

55 En otro aspecto, la invención proporciona un polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende al menos un

sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética, en el que el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética comprende al menos una modificación de aminoácido seleccionada entre el grupo que consiste en E258N-X-T260S, T260N-X-V262T, T260N-X-V262S, V305N, V305N-X-T307S, Q347N-X-Y349T, Q347N-X-Y349S, S364N-X-T366S, T366N-X-L368T, T366N-X-L368S, L368N-X-K370T, L368N-X-K370S, D401N, D401N-X-S403T, F405N-X-Y407T, F405N-X-Y407S, Y407N-X-K409T, Y407N-X-K409S y K409N-X-T411S, en la que X es cualquier aminoácido excepto Pro.

En otro aspecto, la invención proporciona un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento, en el que cada polipéptido que contiene Fc tiene el mismo, o diferentes sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3 o tanto en la interfase de dimerización CH3-CH3 y la interfase CH2-CH2.

Cada polipéptido monomérico que contiene Fc se puede unir de manera recombinante a otro polipéptido monomérico que contiene Fc directamente mediante un enlace en el extremo carboxilo-amino (C-N) o indirectamente mediante un enlazador o un separador. En algunas realizaciones, un enlazador o un separador puede ser un péptido de unión corto. Un ejemplo de un péptido de unión es (GGGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO: 89), en el que n puede ser cualquiera de 1-20, 1-15, 1-10, o 1-5. Por ejemplo, n puede ser cualquiera de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, o 20. Se han diseñado y usado otros ejemplos de enlazadores o separadores (Bird y col., Science 242:423-426 (1988)). Los enlazadores o separadores son polipéptidos cortos, flexibles, y comprenden preferentemente menos de aproximadamente 20 restos de aminoácidos. Los enlazadores o separadores pueden, a su vez, modificarse para funciones adicionales, tales como la unión de fármacos o la unión a soportes adicionales.

Por consiguiente, en algunas realizaciones, la invención proporciona un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante, en el que cada polipéptido que contiene Fc comprende los mismos sitios de glicosilación unidos a N diseñados de manera recombinante en la interfase de dimerización CH3-CH3, y en el que cada polipéptido que contiene Fc está unido de manera recombinante mediante un enlazador. En algunas realizaciones, cada polipéptido que contiene Fc comprende los sitios de glicosilación S364N e Y407N-X-K409T unidos a N diseñados mediante ingeniería genética, en los que X es cualquier aminoácido excepto Pro (por ejemplo, Leu y Ser). En otras realizaciones, cada polipéptido que contiene Fc comprende los sitios de glicosilación S364N-X-T366S y Y407N-X-K409T unidos a N diseñados mediante ingeniería genética. En algunas realizaciones, el enlazador es GGGGS (SEQ ID NO: 89), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 90), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 91), GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 92), o GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 93). Los ejemplos del polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos idénticos que contienen Fc unidos de manera recombinante que se describen en el presente documento se proporcionan en las SEQ ID NOS: 79-88.

En otras realizaciones, la invención proporciona un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante, en el que cada polipéptido que contiene Fc comprende diferentes sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3, y en el que cada polipéptido que contiene Fc está unido de manera recombinante mediante un enlazador. En algunas realizaciones, el primer polipéptido que contiene Fc comprende los sitios de glicosilación S364N e Y407N-X-K409T unidos a N, diseñados mediante ingeniería genética y el segundo polipéptido que contiene Fc comprende los sitios de glicosilación S364N-X-T366S e Y407N-X-K409T unidos a N, diseñados mediante ingeniería genética en los que X es cualquier aminoácido excepto Pro (por ejemplo, Leu y Ser). En algunas realizaciones, el enlazador es GGGGS (SEQ ID NO: 89), GGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 90), GGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 91), GGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 92), o GGGGSGGGGSGGGGSGGGGSGGGGS (SEQ ID NO: 93).

En otra realización, la invención proporciona un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante, en el que cada polipéptido que contiene Fc comprende los mismos sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3, y en el que cada polipéptido que contiene Fc está unido de manera recombinante directamente mediante el extremo C-N. Por consiguiente, en algunas realizaciones, cada polipéptido que contiene Fc comprende los sitios de glicosilación S364N e Y407N-X-K409T unidos a N diseñados mediante ingeniería genética (véanse, por ejemplo, las SEQ ID NOS: 77-78) o S364N-X-T366S y Y407N-X-K409T. En algunas realizaciones, el primer polipéptido que contiene Fc comprende los sitios de glicosilación S364N y Y407N-X-K409T unidos a N, diseñados mediante ingeniería genética y el segundo polipéptido que contiene Fc comprende los sitios de glicosilación S364N-X-T366S e Y407N-X-K409T unidos a N, diseñados mediante ingeniería genética.

El polipéptido que comprende dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante que se describe en el presente documento se une a FcRn con alta afinidad, similar a la de IgG natural que no comprende un sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética. Véase el Ejemplo 5. Dicho polipéptido que se describe en el presente documento se une también estrechamente a FcRn a pH ácido, se disocia de FcRn eficazmente a pH neutro, y muestra al menos una semivida en suero 2 veces más larga que la del polipéptido monomérico que comprende un Fc diseñado mediante ingeniería genética. Véanse, por ejemplo, los Ejemplos 5-6. Por consiguiente, en algunas realizaciones, el polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos

que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento tiene una semivida en suero de al menos aproximadamente cualquiera de 2 veces, 3 veces, 4 veces, 5 veces, 6 veces, 7 veces, 8 veces, y 9 veces más prolongada que la de la semivida en suero presentada por el polipéptido que comprende un polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende dos sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética.

Cualquier molécula que comprende un dominio Fc puede comprender un polipéptido monomérico que contiene Fc de la invención. Por ejemplo, el polipéptido monomérico que contiene Fc puede unirse, conjugarse, o fusionarse a, por ejemplo, un Fab o una secuencia del polipéptido heterólogo (por ejemplo, una proteína de fusión de Fc). Por consiguiente, en algunas realizaciones, un Fab se fusiona al polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende uno o más sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3 o en la interfase CH2-CH2 y en la interfase de dimerización CH3-CH3. Véanse, por ejemplo, los Ejemplos 5 y 6. En otras realizaciones, un Fab se fusiona al polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento. Véanse, por ejemplo, los Ejemplos 5 y 6.

En otras realizaciones, el polipéptido monomérico que contiene Fc puede modificarse o derivatizarse, tal como realizando una fusión de anticuerpo o inmunoadhesina que comprende todo o una parte del polipéptido monomérico que contiene Fc unido a otro polipéptido o agente molecular. Los polipéptidos monoméricos que contienen Fc que se describen en el presente documento pueden modificarse o derivatizarse, por ejemplo, para extender las semividas *in vivo* adicionalmente, produciendo moléculas de fusión más estables y/o mediante tratamiento con polímeros biocompatibles tales como polietilenglicol (PEG), denominado comúnmente "pegilación", o mediante cualquiera de numerosos procedimientos de ingeniería genética diferentes bien conocidos en la materia.

La proteína de fusión monomérica que contiene Fc puede derivatizarse con un grupo químico, incluyendo, aunque no de forma limitativa, polietilenglicol (PEG), un grupo metilo o etilo, un éster, un grupo de hidrato de carbono y similares, utilizando técnicas bien conocidas. Estos grupos químicos (y otros similares a ellos que se han usado para la estabilidad de los compuestos terapéuticos *in vivo*) son útiles para mejorar las características biológicas del polipéptido monomérico que contiene Fc, por ejemplo, para aumentar la semivida en suero y la bioactividad.

La proteína de fusión monomérica que contiene Fc puede también marcarse utilizando cualquiera de una multitud de procedimientos conocidos en la materia. Como se usa en el presente documento, los términos "marca" o "marcado" se refieren a la incorporación de otra molécula en el anticuerpo. En una realización, la marca es un marcador detectable, por ejemplo, la incorporación de un aminoácido radiomarcado o la unión a un polipéptido de restos biotinilo que se pueden detectar mediante la avidina marcada (por ejemplo, estreptavidina que contiene un marcador fluorescente o la actividad enzimática que se puede detectar mediante procedimientos ópticos o colorimétricos). En otra realización, la marca o el marcador puede ser terapéutico, por ejemplo, un conjugado de fármaco o toxina. Se conocen en la técnica diversos procedimientos de marcado de polipéptidos y glicoproteínas y se pueden usar. Los ejemplos de marcas para polipéptidos, aunque no de forma limitativa: radioisótopos o radionucleidos (por ejemplo, <sup>3</sup>H, <sup>14</sup>C, <sup>15</sup>N, <sup>35</sup>S, <sup>90</sup>Y, <sup>99</sup>Tc, <sup>111</sup>In, <sup>125</sup>I, <sup>131</sup>I), marcas fluorescentes (por ejemplo, FITC, rodamina, fósforos basados en lantánidos), marcas enzimáticas (por ejemplo, peroxidasa de rábano picante, β-galactosidasa, luciferasa, fosfatasa alcalina), marcadores quimioluminiscentes, grupos biotinilo, epítopos de polipéptidos predeterminados reconocidos por un indicador secundario (por ejemplo, secuencias de pares de cremalleras de leucina, sitios de unión para anticuerpos secundarios, dominios de unión a metales, etiquetas de epítopos), agentes magnéticos, tales como quelatos de gadolinio, toxinas tales como toxina pertussis, taxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorubicina, dihidroxi-antracindiona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-deshidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propanolol, y puromicina y análogos u homólogos de los mismos. En algunas realizaciones, las marcas se unen mediante brazos separadores de diversas longitudes para reducir el impedimento estérico potencial.

En otro aspecto de la invención, los polipéptidos monoméricos que contienen Fc que se describen en el presente documento pueden desinmunizarse para reducir la inmunogenicidad tras la administración a un sujeto utilizando técnicas conocidas tales como las descritas, por ejemplo, en la publicación PCT WO98/52976 y WO00/34317.

En otro aspecto de la invención, el polipéptido monomérico que contiene Fc puede comprender mutaciones y/o modificaciones adicionales para alterar las características (por ejemplo, PK, inmunogenicidad, agregación, o semivida en suero) del polipéptido. Por ejemplo, el polipéptido monomérico que contiene Fc que se describe en el presente documento puede comprender adicionalmente una leucina en la posición 428 y una serina en la posición 434. Véanse, por ejemplo, patente de Estados Unidos n.º 8.088.376.

## 55 **ÁCIDOS NUCLEICOS, VECTORES Y CÉLULAS**

La presente invención abarca también moléculas y secuencias de ácidos nucleicos que codifican los polipéptidos monoméricos que contienen Fc que se describen en el presente documento. En algunas realizaciones, las diferentes moléculas de ácidos nucleicos codifican una o más de o partes de los polipéptidos monoméricos que contienen Fc, como se describe en el presente documento. En otras realizaciones, la misma molécula de ácido nucleico codifica

los polipéptidos monoméricos que contienen Fc como se describe en el presente documento.

Las moléculas de ácidos nucleicos de la invención incluyen ácidos nucleicos que se hibridan en condiciones muy rigurosas, tales como las de al menos aproximadamente 70%, 75%, 80%, 85%, 90%, 95%, 97%, 98% o 99% o más idénticas a una secuencia de ácido nucleico de la invención.

5 La expresión "porcentaje de identidad de la secuencia" en el contexto de las secuencias de ácidos nucleicos significa los restos en dos secuencias que son iguales cuando se alinea para una correspondencia máxima. La longitud de comparación de la identidad de la secuencia puede estar en un tramo de al menos aproximadamente nueve nucleótidos, usualmente al menos aproximadamente 18 nucleótidos, más usualmente al menos aproximadamente 24 nucleótidos, normalmente al menos aproximadamente 28 nucleótidos, más normalmente al menos aproximadamente 32 nucleótidos, y preferentemente al menos aproximadamente 36, 48 o más nucleótidos. Existen numerosos algoritmos diferentes conocidos en la técnica que se pueden usar para medir la identidad de la secuencia de nucleótidos. Por ejemplo, las secuencias de polinucleótidos pueden compararse utilizando FASTA, Gap o Bestfit, que son programas en el Wisconsin Package Versión 10.0, Genetics Computer Group (GCG), Madison, Wisconsin. FASTA, que incluye, por ejemplo, los programas FASTA2 y FASTA3, proporcionan alineaciones y el porcentaje de identidad de secuencia de las regiones del mejor solapamiento entre las secuencias solicitadas y las buscadas (Pearson, Methods Enzymol. 183:63-98 (1990); Pearson, Methods Mol. Biol. 132:185-219 (2000); Pearson, Methods Enzymol. 266:227-258 (1996); Pearson, J. Mol. Biol. 276:71-84 (1998)). Salvo que se especifique otra cosa, se usan parámetros por defecto para un programa o algoritmo concreto. Por ejemplo, el porcentaje de identidad de secuencias entre las secuencias de ácidos nucleicos se puede determinar utilizando FASTA con sus parámetros por defecto (un tamaño de palabra de 6 y el factor NOPAM para la matriz de puntuación) o utilizando Gap con sus parámetros por defecto como se proporciona en GCG Versión 6.1, incorporado en el presente documento por referencia. En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un vector que comprende una secuencia de ácido nucleico que codifica uno o más de o partes de los polipéptidos monoméricos que contienen Fc, como se describe en el presente documento.

25 En un aspecto adicional, la presente invención proporciona un vector adecuado para expresar uno o más de o partes del polipéptido monomérico que contiene Fc como se describe en el presente documento.

En otra realización, una molécula de ácido nucleico de la invención se usa como una sonda o cebador de la PCR para una secuencia de aminoácido específica, por ejemplo, una secuencia de anticuerpo específica tal como en la regiones del dominio CH2 y/o CH3. Por ejemplo, el ácido nucleico se puede usar como una sonda en procedimientos diagnósticos o como un cebador de la PCR para amplificar regiones de ADN que podrían utilizarse, *entre otras*, para aislar moléculas de ácidos nucleicos adicionales que codifican secuencias útiles. En algunas realizaciones, las moléculas de ácidos nucleicos son oligonucleótidos. En algunas realizaciones, los oligonucleótidos son de las regiones del dominio CH2 y/o CH3 de la cadena pesada de un anticuerpo de interés. En algunas realizaciones, los oligonucleótidos codifican toda o una parte de una o más de la región CH3 modificada del polipéptido monomérico que contiene Fc.

Los vectores de expresión recombinantes de la invención pueden, en algunas realizaciones, transportar secuencias reguladoras que controlan la expresión de los genes de la cadena del anticuerpo en una célula hospedadora. Se apreciará por los expertos en la materia que el diseño del vector de expresión, incluyendo la selección de las secuencias reguladoras puede depender de dichos factores como la elección de la célula hospedadora que se va a transformar, el nivel de expresión de la proteína deseada, etc. Las secuencias reguladoras preferidas para la expresión de la célula hospedadora de mamífero incluyen elementos víricos que dirigen altos niveles de expresión de la proteína en células de mamíferos, tales como promotores y/o potenciadores derivados de las LTR retrovíricas, citomegalovirus (CMV) (tal como el promotor/potenciador de CMV), el virus 40 de simio (SV40) (tal como el promotor/potenciador de SV40), adenovirus, (por ejemplo, el promotor tardío mayor de adenovirus (AdMLP)), los promotores del poliovirus y los promotores fuertes de mamíferos tales como los promotores de la inmunoglobulina natural y los promotores de la actina. Para una descripción adicional de los elementos reguladores víricos, y las secuencias de los mismos, véase, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos números, 5.168.062, 4.510.245 y 4.968.615. Se conocen en la técnica los procedimientos para expresar anticuerpos en plantas, incluyendo una descripción de promotores y vectores, así como la transformación de plantas. Véanse, por ejemplo, el documento US 6.517.529. Se conocen también en la técnica los procedimientos de expresar polipéptidos en células bacterianas o células fúngicas, por ejemplo, células de levadura.

Además de los genes de la cadena del anticuerpo y las secuencias reguladoras, los vectores de expresión recombinantes de la invención pueden transportar secuencias adicionales, tales como secuencias que regulan la replicación del vector en las células hospedadoras (por ejemplo, orígenes de replicación) y genes marcadores seleccionables. El gen marcador seleccionable facilita la selección de las células hospedadoras en las que el vector se ha introducido (por ejemplo, patentes de Estados Unidos números 4.399.216, 4.634.665 y 5.179.017). Por ejemplo, normalmente, el gen marcador seleccionable confiere resistencia a los fármacos, tales como G418, higromicina o metotrexato, en una célula hospedadora en la que se ha introducido dicho vector. Por ejemplo, los genes marcadores seleccionables incluyen el gen de la dihidrofolato reductasa (DHFR) (para su uso en células hospedadoras de dhfr con selección/amplificación de metotrexato), el gen neo (para la selección de G418), y el gen de la glutamato sintetasa.

La expresión "secuencia control de la expresión", como se usa en el presente documento, significa secuencias de polinucleótidos que son necesarias para efectuar la expresión y el procesamiento de secuencias de codificación a las cuales están ligadas. Las secuencias control de la expresión incluyen un inicio de la transcripción adecuado, la terminación, las secuencias promotoras y potenciadoras; señales de procesamiento del ARN eficaces tales como las señales de corte y empalme y de poliadenilación; secuencias que estabilizan el ARNm citoplasmático; secuencias que potencian la eficacia de la traducción (es decir, la secuencia consenso de Kozak); secuencias que potencian la estabilidad de la proteína; y cuando se desea, secuencias que potencian la secreción de la proteína. La naturaleza de dichas secuencias control difiere dependiendo del organismo hospedador; en procariotas, dichas secuencias control incluyen generalmente un promotor, un sitio de unión a ribosoma, y una secuencia de terminación de la transcripción; en eucariotas, en general, dichas secuencias control incluyen promotores y secuencias de terminación de la transcripción. Se pretende que la expresión "secuencias control" incluya, como mínimo, todos los componentes cuya presencia es esencial para la expresión y procesamiento, y puede incluir también componentes adicionales cuya presencia es ventajosa, por ejemplo, secuencias líder y secuencias de ligandos.

#### **PROCEDIMIENTO PARA PRODUCIR POLIPÉPTIDOS MONOMÉRICOS QUE CONTIENEN Fc**

En un aspecto, la presente invención proporciona procedimientos para producir un polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG, en el que el dominio CH3 comprende uno o más sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3, en el que el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética se selecciona entre el grupo que consiste en a) S364N e Y407N-X-K409T; b) S364N-X-T366S e Y407N-X-K409T; c) S364N e Y407N-X-K409S; y d) S364N-X-T366S e Y407N-X-K409S, en la que X es cualquier aminoácido excepto Pro.

En algunas realizaciones, se proporciona un procedimiento de producir un polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende las etapas de: a) cultivar una célula hospedadora que comprende una molécula de ácido nucleico que codifica un polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG, en el que el dominio CH3 comprende uno o más sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3, en el que el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética se selecciona entre el grupo que consiste en a) S364N e Y407N-X-K409T; b) S364N-X-T366S e Y407N-X-K409T; c) S364N e Y407N-X-K409S; y d) S364N-X-T366S e Y407N-X-K409S, en el que X es cualquier aminoácido excepto Pro; y, opcionalmente, b) recuperar el polipéptido monomérico que contiene Fc procedente del cultivo de la célula hospedadora. La memoria descriptiva desvela un sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética que comprende uno o más (por ejemplo, dos) modificaciones de aminoácidos que tienen una secuencia consenso de Asn-X-Ser o Asn-X-Thr, y en el que X es cualquier aminoácidos excepto Pro.

La memoria descriptiva desvela un procedimiento de producir un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante que comprenden las etapas de: a) cultivar una célula hospedadora que comprende una molécula de ácido nucleico que codifica un primer polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG, en el que el dominio CH3 comprende uno o más sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3 o la interfase de dimerización CH3-CH3 y la interfase CH2-CH2, y la misma o una molécula de ácido nucleico diferente que codifica un segundo polipéptido monomérico que contiene Fc que tiene el mismo o diferente(s) sitio(s) de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética como el primer polipéptido que contiene Fc, en el que la célula hospedadora cultivada expresa en primer y el segundo polipéptido monomérico que contiene Fc; y b) recuperar el polipéptido. En algunas realizaciones, el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética comprende una o más (por ejemplo, dos) modificaciones de aminoácidos que tienen una secuencia consenso de Asn-X-Ser o Asn-X-Thr, y en la que X es cualquier aminoácido excepto Pro. La memoria descriptiva desvela, el primer y el segundo polipéptido monomérico que contiene Fc está unido de manera recombinante mediante un enlace en el extremo C-N o mediante un enlazador que utiliza los enlazadores que se divulgan en el presente documento.

La memoria descriptiva desvela un procedimiento de producir un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante que comprenden las etapas de: a) expresar un primer polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG, en el que el dominio CH3 comprende uno o más sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH3-CH3 o la interfase de dimerización CH3-CH3 y la interfase CH2-CH2 en una primera célula hospedadora; b) expresar un segundo polipéptido monomérico que contiene Fc que tiene el mismo o diferente(s) sitio(s) de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética como el primer polipéptido monomérico que contiene Fc en una segunda célula hospedadora; c) aislar el primer polipéptido monomérico que contiene Fc de la etapa a) y el segundo polipéptido monomérico que contiene Fc de la etapa b); y (d) incubar los dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc de la etapa c) en una condición adecuada para la formación del polipéptido (por ejemplo, un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante). La memoria descriptiva desvela, el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética comprende una o más (por ejemplo, dos) modificaciones de aminoácidos que tienen una secuencia consenso de Asn-X-Ser o Asn-X-Thr, y en la que X es cualquier aminoácido excepto Pro. En algunas realizaciones, los dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc de la etapa c) se incuban en presencia de enlazadores (por ejemplo, (GGGGS)<sub>n</sub> (SEQ ID NO: 89), en el que n es 1-10) como se desvela en el presente

documento. La memoria descriptiva desvela un procedimiento de producir un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante que comprenden las etapas de: a) proporcionar un primer polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG, en el que el dominio CH3 comprende uno o más sitios de glicosilación unidos a N en la interfase de dimerización CH3-CH3 o la interfase de dimerización CH3-CH3 y la interfase CH2-CH2; b) proporcionar un segundo polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG, en el que el dominio CH3 comprende uno o más sitios de glicosilación unidos a N en la interfase de dimerización CH3-CH3 o la interfase de dimerización CH3-CH3 y la interfase CH2-CH2; c) permitir al primer polipéptido monomérico que contiene unirse de manera recombinante con el segundo polipéptido monomérico que contiene Fc. La memoria descriptiva desvela que el primer polipéptido monomérico que contiene Fc es el mismo que o diferente del segundo polipéptido monomérico que contiene Fc. En algunas realizaciones, el sitio de glicosilación unido a N diseñado mediante ingeniería genética comprende una o más (por ejemplo, dos) modificaciones de aminoácidos que tienen una secuencia consenso de Asn-X-Ser o Asn-X-Thr, y en la que X es cualquier aminoácido excepto Pro. En algunas realizaciones, el primer y el segundo polipéptido monomérico que contiene Fc está unido de manera recombinante mediante un enlace en el extremo C-N o mediante un enlazador que utiliza los enlazadores que se divulgan en el presente documento.

En algunas realizaciones, los procedimientos descritos en el presente documento comprenden además una etapa de purificación mediante cromatografía.

La cromatografía incluye, aunque no de forma limitativa, cromatografía de afinidad, cromatografía de intercambio iónico, cromatografía de interacción hidrófoba, cromatografía con hidroxiapatito, cromatografía de filtración en gel, cromatografía en fase inversa, cromatografía de adsorción, cromatografía en fase líquida (por ejemplo, HPLC (Cromatografía líquida de alto rendimiento (o presión) y FPLC (cromatografía líquida de proteína rápida)), cromatografía de exclusión molecular, y cromatografía de reparto débil. Los ejemplos de columnas para cromatografía de afinidad incluyen columnas de proteína A (sintética, recombinante, o natural) y columnas de proteína G (sintética, recombinante, o natural).

El técnico experto puede determinar fácilmente, utilizando técnicas bien conocidas, las cantidades relativas de moléculas o anticuerpos para usar de acuerdo con los procedimientos desvelados en el presente documento.

En los procedimientos desvelados en el presente documento, se pueden llevar incubaciones a través de un intervalo de temperaturas. Dichas temperaturas serán reconocidas por los expertos en la materia e incluirán, por ejemplo, temperaturas de incubación a las cuales los cambios físicos perjudiciales tales como desnaturalización o descomposición no se producen en las moléculas o anticuerpos mixtos. En determinadas realizaciones, las incubaciones se llevaron a cabo a 37°C.

Se pueden usar cualquiera de numerosas células hospedadoras en los procedimientos de la invención. Dichas células son conocidas en la técnica (algunas de las cuales se describen en el presente documento) o se pueden determinar empíricamente con respecto a la adecuabilidad para su uso en los procedimientos de la invención utilizando las técnicas rutinarias conocidas en la materia. En determinadas realizaciones, la célula hospedadora es procarionta. En algunas realizaciones, la célula hospedadora es una célula de bacteria gram-negativa. En otras realizaciones, la célula hospedadora es *E. coli*. En algunas realizaciones, la *E. coli* es de una cepa deficiente en actividades de la proteasa endógena. En algunas realizaciones, el genotipo de una célula hospedadora *E. coli* carece de los genes *depG* y *prc* y alberga un gen *spr* mutante.

En algunas realizaciones, los procedimientos de la invención comprenden además expresar en una célula hospedadora un polinucleótido o vector recombinante que codifica la expresión de una molécula e la que en la célula hospedadora potencia el rendimiento de un polipéptido monomérico que contiene Fc, como se describe en el presente documento. Por ejemplo, dicha molécula puede ser una proteína chaperona. En una realización, dicha molécula es un polipéptido procarionta seleccionado entre el grupo que consiste en DsbA, DsbC, DsbG y FkpA. En algunas realizaciones de estos procedimientos, el polinucleótido codifica DsbA y DsbC.

#### *Células hospedadoras no de hibridoma y procedimientos de producir proteína de manera recombinante*

En un aspecto, la presente invención proporciona células hospedadoras recombinantes que permiten la expresión recombinantes del polipéptido monomérico que contiene Fc, como se describe en el presente documento. Los fragmentos de anticuerpos producidos por dicha expresión recombinante en dichas células hospedadoras recombinantes se denominan en el presente documento "fragmentos de anticuerpos recombinantes". La presente invención proporciona también células de la progenie de dichas células hospedadoras, y anticuerpos producidos por las mismas. La expresión "célula hospedadora recombinante" (o simplemente, "célula hospedadora"), como se usa en el presente documento, significa una célula en la que se ha introducido un vector de expresión recombinante. Debe entenderse que "célula hospedadora recombinante" y "célula hospedadora" significan no solo la célula sujeta concreta, sino también la progenie de dicha célula. Debido a que se pueden producir determinadas modificaciones en las generaciones sucesivas debido tanto a mutación como a influencias ambientales, dicha progenie puede no ser, de hecho, idéntica a la célula precursora, pero sigue incluida en el ámbito de la expresión "célula hospedadora" que se usa en el presente documento. Dicha célula puede comprender un vector de acuerdo con la invención como



se ha descrito anteriormente.

En otro aspecto, la presente invención proporciona un procedimiento para preparar el polipéptido monomérico que contiene Fc como se ha descrito anteriormente. De acuerdo con una realización, dicho procedimiento comprende cultivar una célula transfectada o transformada con un vector, como se ha descrito anteriormente, y recuperar dicho polipéptido monomérico que contiene Fc del mismo. Las moléculas de ácidos nucleicos que codifican el polipéptido monomérico que contiene Fc y los vectores que comprenden estas moléculas de ácidos nucleicos se pueden usar para la transfección de una célula hospedadora de mamífero, planta, bacteria o levadura. La transformación puede ser cualquier procedimiento conocido para introducir polinucleótidos en una célula hospedadora. Los procedimientos para la introducción de polinucleótidos heterólogos en células de mamíferos son bien conocidos en la técnica, e incluyen, transfección mediada por dextrano, precipitación con fosfato de calcio, transfección mediada con polibreno, fusión de protoplastos, electroporación, encapsulación del(de los) polinucleótido(s) en liposomas, y microinyección directa del ADN en núcleos. Además, las moléculas de ácidos nucleicos se pueden introducir en células de mamíferos mediante vectores víricos. Son bien conocidos en la técnica los procedimientos de transformar células. Véanse, por ejemplo, las patentes de Estados Unidos números 4.399.216, 4.912.040, 4.740.461 y 4.959.455. Son bien conocidos en la materia los procedimientos para transformar células vegetales, incluyendo, por ejemplo, transformación mediada por *Agrobacterium*, transformación biolística, inyección directa, electroporación y transformación vírica. Se conocen bien en la técnica los procedimientos de transformar células bacterianas y de levaduras.

Las líneas de células de mamíferos disponibles como hospedadores para la expresión son bien conocidas en la materia e incluyen muchas líneas de células inmortalizadas disponibles de la American Type Culture Collection (ATCC). Estas incluyen, *entre otras*, células de ovario de hámster chino (CHO), células NS0, células SP2, células HEK-293T, células 293 Freestyle (Invitrogen), células NIH-3T3, células HeLa, células de riñón de cría de hámster (BHK), células de riñón de mono verde africano (COS), células de carcinoma hepatocelular humano (por ejemplo, Hep G2), células A549), y otras numerosas líneas de células. Las líneas de células de preferencia particular se seleccionan determinando qué líneas de células tienen niveles de expresión altos. Otras líneas de células que se pueden usar son líneas de células de insectos, tales como células Sf9 o Sf21. Cuando los vectores de expresión recombinantes que codifican genes de anticuerpos se introducen en células hospedadoras de mamíferos, se producen los anticuerpos cultivando las células hospedadoras durante un periodo de tiempo suficiente para permitir la expresión del anticuerpo en las células hospedadoras o, más preferentemente, la secreción del anticuerpo en el medio de cultivo en el que se hacen crecer las células hospedadoras. Los anticuerpos (por ejemplo, fragmentos de anticuerpos monoméricos) se pueden recuperar del medio de cultivo utilizando procedimientos de purificación de proteínas normalizados. Las células hospedadoras vegetales adecuadas pueden incluir, por ejemplo, *Nicotiana*, *Arabidopsis*, lenteja de agua, maíz, trigo, patata, etc. Las células hospedadoras bacterianas adecuadas pueden incluir, por ejemplo, especies de *E. coli* y *Streptomyces*. Las células hospedadoras de levaduras adecuadas pueden incluir, por ejemplo, *Schizosaccharomyces pombe*, *Saccharomyces cerevisiae* y *Pichia pastoris*.

Se puede potenciar la expresión de polipéptidos de la invención o de partes de los mismos a partir de la producción de líneas de células utilizando numerosas tecnologías conocidas. Por ejemplo, El sistema de expresión del gen de la glutamina sintetasa (el sistema GS) es una solución común para potenciar la expresión en determinadas condiciones. El sistema GS se describe de forma completa o en parte vinculado a las patentes EP 0 216 846, 0 256 055, 0 323 997 y 0 338 841.

#### **PROCEDIMIENTOS PARA USAR LOS POLIPÉPTIDOS MONOMÉRICOS QUE CONTIENEN Fc**

La presente invención proporciona también diversas aplicaciones terapéuticas para los polipéptidos monoméricos que contienen Fc y los polipéptidos que comprenden al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante, como se describe en el presente documento. En un aspecto, los polipéptidos monoméricos que contienen Fc o el polipéptido que comprende dichos polipéptidos que contienen Fc se pueden usar para proporcionar una mejor penetración y acceso a tumores sólidos u otros antígenos ocultos en comparación con los anticuerpos de tamaño completo o para reducir la agregación y la inestabilidad en comparación con los anticuerpos de tamaño completo o los polipéptidos monoméricos que contienen Fc sin los sitios de glicosilación específicos unidos a N diseñados mediante ingeniería genética como se describe en el presente documento.

#### *Composiciones farmacéuticas*

En un aspecto, la presente invención proporciona una composición farmacéutica que comprende el polipéptido monomérico que contiene Fc o un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante en un transportador farmacéuticamente aceptable. En determinadas realizaciones, los polipéptidos de la invención pueden estar presentes en una forma neutra (incluyendo formas de iones híbridos) o como especies cargadas positiva o negativamente. En algunas realizaciones, los polipéptidos que se describen en el presente documento pueden complejarse con un contraion para formar una "sal farmacéuticamente aceptable", que se refiere a un complejo que comprende uno o más polipéptidos y uno o más contraiones, donde los contraiones se derivan de ácidos y bases inorgánicos y orgánicos farmacéuticamente aceptables.

El polipéptido monomérico que contiene Fc o el polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento pueden administrarse solo o en combinación con uno o más polipéptidos diferentes de la invención o en combinación con uno o más fármacos diferentes (o como cualquier combinación de los mismos). Las composiciones, procedimientos y usos farmacéuticos de la invención abarcan también por tanto realizaciones de combinaciones (coadministración) con otros principios activos, como se detalla a continuación.

Como se usa en el presente documento, las expresiones "coadministración", "coadministrarse" y "en combinación con", en referencia a los fragmentos de anticuerpos monoméricos de la invención y uno o más agentes terapéuticos diferentes, se pretende que signifiquen, y se refieran a e incluyan los siguiente: (i) administración simultánea de dicha combinación de un polipéptido monomérico que contiene Fc o un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento y agente(s) terapéuticos a un paciente que necesita tratamiento, cuando dichos componentes se formulan juntos en una forma de dosificación unitaria que libera dichos componentes prácticamente en el mismo momento a dicho paciente; (ii) administración sustancialmente simultánea de dicha combinación de un polipéptido monomérico que contiene Fc o un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante, como se describe en el presente documento y agente(s) terapéuticos a un paciente que necesita tratamiento, cuando dichos componentes se formulan por separado uno respecto del otro en formas de dosificación separadas que se toman prácticamente en el mismo momento por dicho paciente, después de lo cual, dichos componentes se liberan prácticamente en el mismo momento a dicho paciente; (iii) administración secuencial de dicha combinación de un polipéptido monomérico que contiene Fc o un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento y agente(s) terapéuticos a un paciente que necesita tratamiento, cuando dichos componentes se formulan por separado entre sí en formas de dosificación separadas que se toman prácticamente en momentos consecutivos por dicho paciente con un intervalo de tiempo significativo entre cada administración, después de lo cual, dichos componentes se liberan prácticamente en el mismo momento a dicho paciente; y (iv) administración secuencial de dicha combinación de polipéptido monomérico que contiene Fc o un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante, como se describe en el presente documento y agente(s) terapéuticos a un paciente que necesita tratamiento, cuando dichos componentes se formulan juntos en una forma de dosificación unitaria que libera dichos componentes de una manera controlada, después de lo cual se liberan de forma concurrente, consecutiva, y/ solapada en el mismo y/o diferentes momentos a dicho paciente, donde cada parte puede administrarse mediante cualquiera de la misma o una ruta diferente.

Generalmente, el polipéptido monomérico que contiene Fc o el polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento son adecuados para administrarse como una formulación en asociación con uno o más excipiente(s) farmacéuticamente aceptables. El término "excipiente" se usa en el presente documento para describir cualquier ingrediente distinto a los compuesto(s) de la invención. La elección del(de los) excipiente(s) dependerá en gran medida de factores tales como el modo particular de administración, el efecto del excipiente sobre la solubilidad y la estabilidad y la naturaleza de la forma de dosificación. Como se usa en el presente documento, un "excipiente farmacéuticamente aceptable" incluye a cualquiera y a todos los disolventes, medios de dispersión, recubrimientos, agentes antibacterianos y antifúngicos, agentes isotónicos y retardantes de la absorción y similares, que sean fisiológicamente compatibles. Algunos ejemplos de excipientes farmacéuticamente aceptables incluyen agua, solución salina, solución salina tamponada con fosfato, dextrosa, glicerol, etanol, y similares, así como combinaciones de los mismos. En muchos casos, será preferente incluir agentes isotónicos, por ejemplo, azúcares, polialcoholes tales como manitol, sorbitol o cloruro sódico en la composición. Los ejemplos adicionales de sustancias farmacéuticamente aceptables son agentes humectantes o cantidades menores de sustancias auxiliares tales como agentes humectantes o emulsionantes, conservantes o tampones, que mejoran la vida útil o la efectividad del anticuerpo.

Las composiciones farmacéuticas de la presente invención y los procedimientos para su preparación serán fácilmente evidentes para los expertos en la materia. Tales composiciones y procedimientos para su preparación pueden encontrarse, por ejemplo, en Remington's Pharmaceutical Sciences, 21ª Edición (Mack Publishing Company, 2005). Las composiciones farmacéuticas se fabrican preferentemente en condiciones GMP.

Se puede preparar una composición farmacéutica de la invención, envasarse, o comercializarse a granel, como una dosis unitaria única, o como una pluralidad de dosis unitarias únicas. Como se usa en el presente documento, una "dosis unitaria" es una cantidad específica de la composición que comprende una cantidad predeterminada del principio activo. La cantidad del principio activo es generalmente igual a la dosificación del principio activo que se administraría a un sujeto o una fracción conveniente de dicha dosificación tal como, por ejemplo, una mitad o un tercio de dicha dosificación. Cualquier procedimiento para administrar péptidos, proteínas o anticuerpos aceptado en la técnica puede emplearse de forma adecuada para los polipéptidos monoméricos que contienen Fc descritos en el presente documento.

Las composiciones farmacéuticas de la invención son normalmente adecuadas para la administración parenteral. Como se usa en el presente documento, la "administración parenteral" de una composición farmacéutica incluye

cualquier vía de administración caracterizada por la rotura física de un tejido de un sujeto y la administración de la composición farmacéutica a través de la brecha en el tejido, dando como resultado por tanto generalmente la administración directa en el torrente sanguíneo, en del músculo, o en un órgano interno. La administración parenteral incluye por tanto, aunque no de forma limitativa, la administración de una composición farmacéutica mediante inyección de la composición, mediante aplicación de la composición a través de una incisión quirúrgica, mediante la aplicación de la composición a través de una herida no quirúrgica que penetra en el tejido, y similares. En particular, se contempla que la administración parenteral incluya, aunque no de forma limitativa, inyección subcutánea, intraperitoneal, intramuscular, intraesternal, intravenosa, intraarterial, intratecal, intraventricular, intrauretral, intracraneal, intrasinoval o infusión; y técnicas de infusión de diálisis renal. Las realizaciones preferidas incluyen las vías intravenosa y subcutánea.

Las formulaciones de una composición farmacéutica para la administración parenteral comprenden generalmente de forma típica el principio activo combinado con un transportador farmacéuticamente aceptable, tal como agua estéril o solución salina isotónica estéril. Dichas formulaciones pueden prepararse, envasarse o comercializarse en una forma adecuada para la administración en bolo o para la administración continua. Se pueden preparar formulaciones inyectables, envasarse, o comercializarse en una forma de dosificación unitaria, tal como en ampollas o en recipientes multidosis que contienen un conservante. Las formulaciones para administración parenteral incluyen, aunque no de forma limitativa, suspensiones, soluciones, emulsiones en vehículos acuosos u oleosos, pastas, y similares. Dichas formulaciones pueden comprender además uno o más ingredientes adicionales incluyendo, aunque no de forma limitativa, agentes suspensores, estabilizantes, o dispersantes. En una realización de una formulación para administración parenteral, el principio activo se proporciona en forma seca (es decir, en polo o gránulos) para la reconstitución con un vehículo adecuado (por ejemplo, agua estéril exenta de pirógenos antes de la administración parenteral de la composición reconstituida). Las formulaciones parenterales incluyen también soluciones acuosas que pueden contener excipientes tales como sales, carbohidratos y agentes tamponantes (preferentemente a un pH de 3 a 9), pero, para algunas aplicaciones, pueden formularse más adecuadamente como una solución no acuosa estéril o como una forma seca para usar junto con un vehículo adecuado, tal como agua estéril exenta de pirógenos. Las formas de administración parenteral ilustrativas incluyen soluciones o suspensiones en soluciones acuosas estériles, por ejemplo, soluciones acuosas de propilenglicol o de dextrosa. Dichas formas de dosificación pueden estar adecuadamente tamponadas, si se desea. Otras formulaciones administrables parenteralmente que son útiles incluyen aquellas que comprenden el principio activo en forma microcristalina, o en una preparación liposómica. Las formulaciones para administración parenteral pueden formularse para que sean de liberación inmediata y/o modificada. Las formulaciones de liberación modificada incluyen formulaciones de liberación controlada, retrasada, continua, pulsada, dirigida y programada. Por ejemplo, en un aspecto, se pueden preparar soluciones inyectables estériles incorporando los polipéptidos monoméricos que contienen Fc, en la cantidad requerida en un disolvente adecuado con una o una combinación de ingredientes enumerados anteriormente, según sea necesario, seguido de esterilización por filtración. Generalmente, las dispersiones se preparan incorporando el compuesto activo en un vehículo estéril, que contiene un medio de dispersión básico, y los otros principios requeridos que se han enumerado anteriormente. En el caso de polvos estériles para la preparación de soluciones inyectables estériles, los procedimientos preferidos de preparación son secado al vacío y liofilización, que da como resultado un polvo del principio activo más cualquier ingrediente deseado adicional a partir de una solución del mismo previamente esterilizada mediante filtración. Puede mantenerse la fluidez adecuada de una solución, por ejemplo, usando un recubrimiento como lecitina, manteniendo el tamaño de partícula necesario en el caso de las dispersiones y mediante el uso de tensioactivos. La absorción prolongada de composiciones inyectables se puede conseguir incluyendo en la composición un agente que retrase la absorción, por ejemplo, sales de monoestearato y gelatina.

Una composición farmacéutica no limitante ilustrativa de la composición es una formulación como una solución acuosa estéril que tiene un pH que varía de aproximadamente 5,0 a aproximadamente 6,5 y que comprende desde aproximadamente 1 mg/ml a aproximadamente 200 mg/ml de un polipéptido monomérico que contiene Fc descrito en el presente documento, de aproximadamente 1 milimolar a aproximadamente 100 milimolar de tampón histidina, de aproximadamente 0,01 mg/ml a aproximadamente 10 mg/ml de polisorbato 80, de aproximadamente 100 milimolar a aproximadamente 400 milimolar de trehalosa, y de aproximadamente 0,01 milimolar a aproximadamente 1,0 milimolar de EDTA disódico dihidratado.

Los regímenes de dosificación se pueden ajustar para proporcionar la respuesta óptima deseada. Por ejemplo, se puede administrar un único bolo, se pueden administrar en el tiempo varias dosis divididas, o la dosis se puede reducir proporcionalmente o aumentarse tal como indiquen las exigencias de la situación terapéutica. Es especialmente ventajoso formular las composiciones parenterales en una forma de dosificación unitaria para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de dosificación unitaria, como se usa en el presente documento, se refiere a unidades físicamente específicas adecuadas como dosificaciones unitarias para los pacientes/sujetos que se van a tratar; conteniendo cada unidad una cantidad predeterminada de un principio activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado junto con el vehículo farmacéuticamente aceptable. La especificación de las formas de dosificación unitarias de la invención vienen dictaminadas generalmente por y dependen directamente de (a) las características únicas del agente terapéutico y el efecto terapéutico o profiláctico particular a lograr, y (b) las limitaciones inherentes en la técnica para componer dicho principio activo para el tratamiento de la sensibilidad en individuos.

Por lo tanto, el experto en la materia apreciará, basándose en la divulgación proporcionada en el presente documento, que la dosis y el régimen de dosificación se ajusta de acuerdo con los procedimientos bien conocidos en las técnicas terapéuticas. Es decir, la dosis máxima tolerada se puede establecer fácilmente, y también se puede determinar la cantidad eficaz que proporciona un beneficio terapéutico detectable a un paciente, como también se pueden determinar los requisitos temporales para administrar cada agente para proporcionar un beneficio terapéutico detectable al paciente. Por consiguiente, aunque determinadas dosis y regímenes de administración se ejemplifican en el presente documento, estos ejemplos de ningún modo limitan la dosis y el régimen de administración que se puede proporcionar a un paciente en la práctica de la presente invención.

Cabe destacar que los valores de dosificación pueden variar con el tipo y la gravedad de la afección a aliviar, y pueden incluir dosis únicas o múltiples. Debe entenderse además que para cualquier sujeto particular, los regímenes de dosificación específicos se deberían ajustar con el tiempo de acuerdo con la necesidad individual y el criterio profesional de la persona que administra o supervisa la administración de las composiciones, y que los intervalos de dosificación establecidos en el presente documento son solo ilustrativos y no pretenden limitar el ámbito o la práctica de la composición reivindicada. Además, el régimen de dosificación con las composiciones de la presente invención pueden basarse en una variedad de factores, incluyendo el tipo de enfermedad, la edad, el peso, el sexo, la afección médica del paciente, la gravedad de la dolencia, la ruta de administración, y el anticuerpo concreto empleado. Por lo tanto, el régimen de dosificación puede variar ampliamente, pero puede determinarse rutinariamente usando procedimientos estándar. Por ejemplo, las dosis se pueden ajustar en función de parámetros farmacocinéticos o farmacodinámicos, que pueden incluir efectos clínicos tales como efectos tóxicos y/o valores de laboratorio. Por lo tanto, la presente invención abarca el aumento gradual de dosis intra-paciente según determine el experto. La determinación de dosificaciones y regímenes adecuados son bien conocidas en la técnica pertinente y el técnico experto entendería que están abarcadas una vez se proporcionen las enseñanzas desveladas en el presente documento.

Para su administración a sujetos humanos, la dosis mensual total de un polipéptido monomérico que contiene Fc o un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante como se describe en el presente documento está normalmente en el intervalo de aproximadamente 0,5 a aproximadamente 1500 mg por paciente, dependiendo, por supuesto, del modo de administración. Por ejemplo, una dosis mensual intravenosa puede requerir aproximadamente 1 a aproximadamente 1000 mg/paciente. La dosis mensual total puede administrarse en dosis únicas o divididas y puede, a juicio del médico, caer fuera del intervalo típico proporcionado en el presente documento.

Un intervalo no limitante ilustrativo para una cantidad terapéutica o profiláctica eficaz de un polipéptido monomérico que contiene Fc o un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante, como se describe en el presente documento, es aproximadamente 1 a aproximadamente 1000 mg/paciente/mes. En determinadas realizaciones, el polipéptido monomérico que contiene Fc o un polipéptido que comprende el mismo puede administrarse de aproximadamente 1 a aproximadamente 200 o de aproximadamente 1 a aproximadamente 150 mg/paciente/mes.

### **Ejemplos**

Los siguientes ejemplos describen la generación y caracterización de polipéptidos monoméricos que contienen Fc que comprenden uno o más sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase de dimerización CH<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub> o la interfase de dimerización CH<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub> y la interfase CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>. Se proporciona también la generación y caracterización de polipéptidos que comprenden al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante. Se entiende que los ejemplos proporcionados a continuación ilustran los procedimientos y materiales de la presente invención.

#### **Ejemplo 1: Monomerización de un Fc por otra parte dimérico mediante la incorporación de sitios de N-glicosilación en la interfase CH<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>**

Se usó una estrategia de diseño de glicoingeniería para diseñar mediante ingeniería genética una forma monomérica estable de un dominio FC de un anticuerpo. De manera más específica, se introdujeron restos de hidratos de carbono voluminosos e hidrófilos en la interfase CH<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>, que separaron la forma dimérica de Fc en una forma monomérica. De forma sorprendente, esta glicoingeniería estabilizó también la interfase expuesta del dominio CH<sub>3</sub>. Se emplearon cuatro criterios para determinar cuando incorporar los sitios de mutación por N-glicosilación (para proporcionar la secuencia de señalización de la glicosilación unida a N convencional de Asn-X-Ser/Thr). En primer lugar, se identificaron los restos localizados sobre la interfase de CH<sub>3</sub>-CH<sub>3</sub>, con el fin de evitar la selección de los restos soterrados en el núcleo del dominio Ig o los restos expuestos al disolvente (Figura 1). Se usó la estructura cristalina de gamma 1 Fc humano (PDB ID:1HZH) para calcular el porcentaje de superficie accesible (% de ASA) de cada resto en el dímero Fc (forma natural) y en una cadena de un dímero Fc (es decir, un monómero de Fc hipotético) con el programa MOE (Chemical Computing Group). Los restos con un % de ASA mayor (dímero) deberían ser los restos que se exponen al disolvente. Se teorizó que era más probable que los restos con el valor del % de ASA mayor estuvieran expuestos al disolvente o soterrados en la interfase C<sub>H3</sub>-C<sub>H3</sub>. Por lo tanto, se determinó el grado de implicación de la interfase sustrayendo el % de ASA del monómero del dímero Fc como  $\Delta\text{ASA} = \%$  de ASA (monómero) - % de ASA (dímero)) y se seleccionaron 22 restos de interfase cuyos  $\Delta\text{ASA}$  eran superiores a un

valor umbral del 10%. Véase la Tabla 1. En segundo lugar, se evitó la mutagénesis de restos de prolina, glicina y cisteína debido a que estos restos juegan generalmente un importante papel en el mantenimiento del marco estructural de una proteína. En tercer lugar, se consideró la probabilidad de ocupancia de la glicosilación. Los restos Asn-X-Ser/Thr-Y se incorporaron a la región donde ningún X (el aminoácido situado entre Asn and Ser/Thr) ni Y (el aminoácido situado a continuación de Ser/Thr) es un resto de prolina, ya que la prolina en estas posiciones inhibe fuertemente la eficacia de la glicosilación. Cuando los restos en la tercera posición (es decir, Ser/Thr) de la secuencia de señalización de la glicosilación unida a N convencional de Asn-X-Ser/Thr deben mutarse, se seleccionó la treonina sobre la serina debido a que se ha mostrado que la treonina en la tercera posición proporciona mayor ocupancia del glicano en el resto asparagina que la serina en la tercera posición. Finalmente, se cartografiaron los restos en la estructura tridimensional de una cadena de un dominio Fc y se inspeccionaron manualmente, y se eliminaron las posiciones donde los hidratos de carbono diseñados mediante ingeniería genética podrían tener poco impacto para separar la interfase CH3-CH3 (Leu<sup>256</sup> y Asp<sup>276</sup>). Por lo tanto, se seleccionaron lógicamente un total de nueve posiciones para la N-glicosilación. Estos restos seleccionados están bien conservados entre todos los isotipos de IgG humana (1, 2, 3 y 4) así como los isotipos de IgG de ratón (2, 2a, 2b y 3) (Figura 2). Se construyeron mutantes de N-glicosilación individuales utilizando el dominio Fc de IgG1 e IgG4 humanas sin la región bisagra (Gly<sup>226</sup> to Lys<sup>497</sup>) como molde. Los ácidos nucleicos que codifican estos péptidos se expresaron transitoriamente en células HEK293. Para evaluar la expresión y la eficacia de la N-glicosilación, el sobrenadante del medio se sometió a SDS-PAGE en condiciones reductoras así como a análisis de transferencia Western. Los niveles de expresión de todos los mutantes fueron similares al dominio Fc natural excepto en que el mutante de la posición 366 se expresó mal. Pareció que las variantes N-glicosiladas migraron con la movilidad correspondiendo a un peso molecular de aproximadamente 25 kDa, mientras que las variantes no glicosiladas migraron a aproximadamente 22 kDa. Cinco sitios (364, 366, 368, 405 y 407) mostraron una N-glicosilación eficaz, mientras que cuatro sitios (347, 390, 401, 409) mostraron una incorporación de aproximadamente el 50% o menor de N-glicanos. Como los perfiles de expresión y glicosilación de los mutantes de IgG1 e IgG4 fueron similares, se usaron los mutantes de IgG1 para los estudios adicionales.

Tabla 1: % de ASA

| Restos de la interfase | % de ASA (dímero) | % de ASA (monómero) | n.º de Δ ASA |
|------------------------|-------------------|---------------------|--------------|
| *Gln347                | 26,5              | 41,8                | 15,4         |
| Tyr349                 | 5,1               | 41,4                | 36,3         |
| Leu351                 | 3,8               | 41,9                | 38,0         |
| Ser354                 | 13,6              | 60,2                | 46,6         |
| Asp356                 | 47,9              | 74,4                | 26,5         |
| Glu357                 | 2,8               | 26,9                | 24,1         |
| Lys360                 | 42,7              | 62,9                | 20,2         |
| *Ser364                | 3,8               | 18,5                | 14,8         |
| *Thr366                | 0,7               | 21,2                | 20,5         |
| *Leu368                | 1,4               | 15,2                | 13,8         |
| Lys370                 | 17,1              | 37,3                | 20,0         |
| *Asn390                | 39,9              | 55,6                | 15,7         |
| Lys392                 | 42,8              | 77,6                | 34,9         |
| Thr394                 | 2,5               | 42,7                | 40,2         |
| Val397                 | 13,6              | 42,3                | 28,7         |
| *Asp401                | 14,0              | 32,4                | 18,5         |
| Ser400                 | 56,7              | 89,2                | 32,5         |
| *Phe405                | 0                 | 24,2                | 24,2         |
| *Tyr407                | 0                 | 37,3                | 37,3         |
| *Lys409                | 1,5               | 50,5                | 48,9         |

(continuación)

| Restos de la interfase | % de ASA (dímero) | % de ASA (monómero) | n.º de $\Delta$ ASA |
|------------------------|-------------------|---------------------|---------------------|
| Lys439                 | 27,9              | 41,3                | 13,4                |
| Ser434                 | 56,8              | 68,8                | 12,0                |

\*Las posiciones seleccionadas para el diseño mediante ingeniería genética de la N-glicosilación.

**Ejemplo 2: Caracterización de las variantes de la N-glicosilación**

Se seleccionaron cuatro mutantes (posiciones 364, 368, 405 y 407) con N-glicosilación completa para purificación y caracterización adicionales. Estos mutantes de N-glicosilación, denotados como CH23-N364 (Fc-S364N), CH23-N368 (Fc-L368N/K370T), CH23-N405 (Fc-F405N/Y407T) y CH23-N407 (Fc-Y407N/K409T), se purificaron como se describe en otra parte en el presente documento, dando como resultado una pureza >95% como se determinó mediante SDS-PAGE. Los rendimientos de la proteína purificada estuvieron en el intervalo de 20 - 30 mg por litro de medio. A fin de evaluar los rendimientos relativos de las variantes glicosiladas y no glicosiladas en cada posición, se llevó a cabo un ensayo de electroforesis capilar en gel (CGE) de la proteína purificada con y sin tratamiento de la PNGasa F. Los datos desvelados en el presente documento sugieren que estos cuatro mutantes contienen hasta un 10% de variantes no glicosiladas, lo que es similar al Fc natural (Tabla 2). Se usó una columna de exclusión molecular (SEC) analítica para estimar los pesos moleculares aparentes de las variantes de N-glicosilación. Los pesos moleculares mostraron un peso molecular aparente inferior (25 ~ 30 kDa) que el Fc natural (~ 48 kDa), lo que sugiere que la N-glicosilación incorporada perturbó satisfactoriamente la interfase CH3-CH3 del dímero Fc. Se usó SEC-MALS (cromatografía de exclusión por tamaño-dispersión de luz multiángulo) para llevar a cabo un análisis más riguroso de la distribución de especies oligoméricas de los mutantes N-glicosilados, aunque estos mutantes parecieron ser monoméricos según SEC. La masa molecular determinada mediante la dispersión de la luz sobre la señal del índice de refracción mostró que CH23-N405 era completamente monomérico, sin embargo, se encontró que CH23-N364, CH23-N405 y CH23-N407 eran mezclas de formas monoméricas y dimericas. Se caracterizó adicionalmente la estabilidad térmica de estos cuatro mutantes N-glicosilados mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC). Los termogramas del Fc natural dieron como resultado dos transiciones con las temperaturas de fusión de 72 y 83 °C. Estos valores fueron comparables al valor de 70,8°C y 83,3°C que se ha asignado a la fusión de los dominios CH2 y CH3. Por el contrario, los mutantes N-glicosilados individuales mostraron una única transición con la temperatura de fusión disminuida (Tabla 2).

Tabla 2: Sumario de la caracterización biofísica

| Mutantes de N-glicosilación | % singlico (%) | SEC-MALS        | Tf (°C) | Kd, FcRn (nM) |
|-----------------------------|----------------|-----------------|---------|---------------|
| Fc natural (c/s bisagra)    | 12             | dímero          | 72/83   | 280           |
| CH23-N364                   | 6              | monómero/dímero | 64      | 340           |
| CH23-N368                   | 9              | monómero/dímero | 58      | 460           |
| CH23-N405                   | 7              | monómero        | 62      | 290           |
| CH23-N407                   | 5              | monómero/dímero | 63      | 450           |
| CH23-N364/N368              | < 0,5          | agregación      | 53/62   | 580           |
| CH23-N364/N407              | < 0,5          | monómero        | 64      | 220           |
| CH23-N258/N364/N407         | < 0,5          | monómero        | 62      | 230           |
| CH23-N260/N364/N407         | 8              | monómero        | 55      | 260           |
| CH23-N286/N364/N407         | < 0,5          | monómero        | 64      | 520           |
| CH23-N305/N364/N407         | 10             | monómero        | 57      | 320           |

**Ejemplo 3: Combinación de múltiples sitios**

Para minimizar adicionalmente la parte no glicosilada de cada variante, se introdujeron dos sitios de N-glicosilación en el dominio CH3 mediante mutaciones individuales en las posiciones de 364, 368, 405 y 407, que dieron como resultado un 90% a 95% de ocupancia de la glicosilación. La Figura 3 resalta la alineación especial de la Ser<sup>364</sup>, Leu<sup>368</sup>, Phe<sup>405</sup> y Tyr<sup>407</sup> en la interfase del dominio CH3. Basándose en estas observaciones, se teorizó que los dos

restos de hidratos de carbono en dos sitios entre 368, 405 y 407 desestabilizarían además la estructura debido a que estos tres restos se localizan en estrecha proximidad entre sí. Por lo tanto, tres combinaciones de estos sitios unidos a N, es decir, N364 y N368, N364 y N405 y N364 y N407, se seleccionaron para la incorporación de dos sitios de N-glicosilación. Estos tres mutantes de doble N-glicosilación, concretamente CH23-N364/N368, CH23-N364/N405 y CH23-N364/N407, se expresaron en células HEK293 y se examinaron para la expresión y la glicosilación mediante transferencia western. Se observaron aumentos en el tamaño en comparación con los mutantes de una única N-glicosilación para CH23-N364/N368 y CH23-N364/N407, mientras que CH23-N364/N405 no se secretó a un nivel detectable. Debido a que se encontró que CH23-N364/N405 se expresaba pero no se excretaba por la célula, se teorizó que esta doble mutación puede discapacitar la secreción de la proteína o producir inestabilidad en la estructura de la proteína. Debido a que el tratamiento de la PNGasa F dio como resultado el tamaño molecular que corresponde a la forma reducida del dominio Fc, el aumento en el tamaño de CH23-N364/N368 y CH23-N364/N407 se atribuyó a la presencia de múltiples glicanos unidos a N sobre cada molécula. Las proteínas CH23-N364/N368 y CH23-N364/N407 se purificaron y se investigaron el estado oligomérico, el rendimiento de las moléculas no glicosiladas, y la estabilidad térmica, como se describe en otra parte en el presente documento. Se disminuyeron las moléculas no glicosiladas de CH23-N364/N368 y CH23-N364/N407 hasta un nivel indetectable (Tabla 2). El CH23-N364/N407 producido era completamente monomérico incluso aunque mutantes individuales de CH23-N364 y CH23-N407 formaron cantidades detectables de dímeros. Cabe señalar, CH23-N364/N368 mostró una tendencia agregativa y una disminución en la estabilidad térmica basándose en los análisis de SEC-MALS y DSC. Sin embargo, la doble mutación en las posiciones 364 y 407 mejoró las propiedades del Fc monomérico en términos de estabilidad, eficacia de la glicosilación y tendencia monomérica (Tabla 2). Se confirmó también la glicosilación mediante SC-MALS analítico con un detector UV a 280 nM (sensible solo al componente de proteína) y un detector de IR (sensible a los componentes de la proteína e hidratos de carbono).

El dominio CH2 contiene naturalmente N-glicosilación en Asn<sup>297</sup> (Figura 1). Debido a que se mostró que dos glicanos diseñados mediante ingeniería genética en el dominio CH3 se estabilizaban en la forma monomérica, se investigó además un sitio de glicosilación en el dominio CH2 además de la N-glicosilación natural en Asn<sup>297</sup>. En primer lugar, se identificó un potencial sitio de glicosilación diseñado mediante ingeniería genética en el CH2 en las posiciones 258, 260, 286 y 305 (Figura 1). Se conservaron estos cuatro restos entre todos los isotipos de IgG humana (1, 2, 3 y 4) y se conservaron principalmente entre los isotipos de IgG de ratón (2, 2a, 2b y 3) (Figura 3). Un sitio de N-glicosilación individual diseñado mediante ingeniería genética se introdujo en CH23-N364/N407 y los mutantes de triple N-glicosilación se expresaron en células HEK293. Por lo tanto, estos mutantes comprenden un sitio de glicosilación natural en N297 y tres sitios de glicosilación diseñados mediante ingeniería genética: uno en el dominio CH2 y dos en el dominio CH3. Todos los mutantes se purificaron y examinaron para el rendimiento de la no glicosilación, el estado monomérico y la estabilidad térmica como se ha descrito anteriormente y los resultados se muestran en la Tabla 1. CH23-N258/N364/N407 and CH23-N286/N364/N407 se encontraron que eran monoméricos y completamente glicosilados mientras que CH23-N260/N364/N407 y CH23-N305/N364/N407 eran monoméricos, pero dieron como resultado aproximadamente 5 ~ 10 % de moléculas no glicosiladas.

#### Ejemplo 4: Estructura cristalina de CH23-N364/N407

Se hicieron crecer cristales de CH23-N364/N407 que difractaban a 1,9 Å. La estructura se resolvió mediante sustitución molecular utilizando el coordinado de una cadena polipeptídica de un dímero Fc (3DTS) como un modelo de búsqueda. En la Tabla 3 se muestran la recogida de datos y la estadística de refinamiento del conjunto de datos y el modelo. La cartografía experimental de CH23-N364/N407 dio como resultado una densidad clara para la estructura principal completa de Gly224 a Ser447, y >95% de las cadenas secundarias se ajustaron a la densidad de electrones. Las sustituciones de S364N, Y407N, y K409T fueron claramente visibles en el dominio CH3. Se determinó la topología de la cadena de hidratos de carbono conectada a Asn<sup>297</sup> a partir de su densidad de electrones. Se identificaron ocho restos de azúcar (GlcNAc1-GlcNAc5, Man7, GlcNAc8 y Fuc). Por el contrario, solo se identificó cada resto de azúcar sobre los restos Asn<sup>364</sup> y Asn<sup>407</sup> diseñados mediante ingeniería genética. Se localizó el GlcNAc1 unido a la cadena secundaria de Asn<sup>364</sup> de acuerdo con su densidad de electrones. Sin embargo, el GlcNAc1 unido a Asn<sup>407</sup> no pudo colocarse debido a la baja densidad de electrones, aunque el mapa de densidades sugirió que existen átomos pesados mayores que las moléculas de agua en estrecha proximidad de la cadena secundaria de Asn<sup>407</sup>. Sin embargo, el contenido de la unidad asimétrica del cristal CH23-N364/N407 mostró solo una unidad monomérica del dominio Fc regular que existe como dímero de dos cadenas polipeptídicas glicosiladas idénticas (Figura 4). Estos datos cristalográficos demuestran que la glicosilación diseñada mediante ingeniería genética sobre la interfase CH3-CH3 puede estabilizar la forma monomérica del dominio Fc.

Tabla 3. Recogida de datos de rayos X y estadísticas de refinamiento del modelo

|                         |                      |
|-------------------------|----------------------|
| Recogida de datos       |                      |
| Grupo espacial          | P3 <sub>1</sub> 2    |
| dimensiones de la celda |                      |
| <i>a, b, c</i> (Å)      | 64,22, 64,22, 146,94 |

(continuación)

|   |                     |
|---|---------------------|
| Recogida de datos                           |                     |
| $\alpha, \beta, \gamma$ (°)                 | 90,0, 90,0, 120,0   |
| Resolución (Å)                              | 50,-1,9 (1,93-1,90) |
| N.º de reflexiones (total/único)            | 544,128/26.945      |
| Completitud (%)                             | 96,8 (67,3)         |
| Redundancia                                 | 4,7 (2,2)           |
|   |                     |
| <b>Refinamiento</b>                         |                     |
| Resolución (Å)                              | 1,9                 |
| $R_{\text{trabajo}} / R_{\text{libre}}$ (%) | 25,0 / 25,9         |
| N.º de átomos                               |                     |
| Proteína                                    | 1852                |
| N.º de átomos de hidratos de carbono        | 187                 |
| Agua  | 74                  |
| $B$ -factores promedio                      |                     |
| Proteína                                    | 48,55               |
| Desviaciones r.m.s.                         |                     |
| longitudes de enlace (Å)                    | 0,007               |
| Ángulos de enlace (°)                       | 1,09                |

**Ejemplo 5: Producción y caracterización *in vitro* de variantes de Fab-CH23:**

A fin de elucidar la implicación de FcRn en el tiempo de vida de CH23 en suero, un fragmento Fab derivado de un anticuerpo dirigido contra KJLH se fusionó a CH23 (denominado en el presente documento "Fab-CH23" que se denomina también Fab-CH23-N364/N407 (S364N-L355-T366 y Y407N-S408-K409T (por ejemplo, SEQ ID NO: 71)). El mismo fragmento Fab se fusionó también a la variante de FcRn inactivada genéticamente (Fab-CH23[H310A/H433A] (por ejemplo, SEQ ID NO: 75)) y a la variante de potenciación de FcRn (Fab-CH23[M428L/N434S] (por ejemplo, SEQ ID NO: 73)). Una construcción CH23 en tándem (Fab-CH23-CH23 (por ejemplo, SEQ ID NO: 85)) que comprende dos polipéptidos Fc diseñados mediante ingeniería genética se construyó también como un control de formato IgG1 regular (es decir, un anticuerpo dirigido contra KLH) para ensayar la hipótesis de que la avidéz puede mejorar la propiedad farmacocinética de CH23 (Figura 5). Todas las construcciones se transfectoron en células CHO, y se purificaron las proteínas mediante cromatografía en columna de proteína G. Como control, se produjo Fab-CH23 producido en un sistema de expresión transitoria de células HEK293 (denominado "Fab-CH23-HEK"). Se investigaron la unión a FcRn de estas construcciones en un formato de unión 1 a 1 ("variante Fc" unida a la superficie de un chip BIAcore y el FcRn soluble flotó sobre la superficie del chip) y un formato de avidéz (proteína FcRn de ratón unida a la superficie del chip BIAcore, y cada variante de Fc flotó sobre el chip). En la Tabla 4 se resumen los datos de unión en el equilibrio. La afinidad de unión 1 a 1 tanto de Fab-CH23 como de Fab-CH23-HEK (Tabla 4) era similar a la de CH23-N364/N407 (Tabla 1) sugiriendo que la fusión de Fab no afecta la unión de Fc a FcRn. Como era de esperar, la mayor afinidad de unión de FcRn se observó para Fab-CH23[M428L/N434S] mientras que no se observó unión de FcRn para Fab-CH23[H310A/H433A]. En el ensayo de unión 1 a 1, Fab-CH23-CH23 localizado sobre la superficie del chip mostró una afinidad de unión similar a la de Fab-CH23 para FcRn. De forma sorprendente, en el ensayo de avidéz (FcRn localizado sobre la superficie del chip), sin embargo, Fab-CH23-CH23 mostró una afinidad mayor de aproximadamente 40 veces por la unión a FcRn que Fab-CH23. aunque la arquitectura de Fc de IgG y el tándem CH23-CH23 difieren, Se encontró que Fab-CH23-CH23 se une con alta afinidad a FcRn localizado sobre la superficie del biosensor de manera similar a la afinidad de IgG que comprende un único dominio Fc. A fin de evaluar qué Fab-CH23-CH23 se disoció de FcRn a pH neutro, se midió el porcentaje de Fab-CH23-CH23 unido a pH 7,4 y a pH 6,0 durante la fase de disociación. Se observó que el % unido de Fab-CH23-23 e IgG eran casi iguales. Estos resultados demuestran que Fab-CH23-CH23 no solo se une estrechamente a FcRn a pH ácido, sino que también se disocia de FcRn eficazmente a pH neutro de forma similar a



Fc de IgG natural.

Tabla 4. Resumen de interacciones de FcRn de diversas fusiones de Fab-CH23

| Variantes              | Kd (1 a 1) (nM) | Kd (avidez) (nM) | % unido (%) |
|------------------------|-----------------|------------------|-------------|
| Fab-CH23-HEK           | 230             | 180              | 1,1         |
| Fab-CH23               | 250             | 180              | 5,6         |
| Fab-CH23[H310A/H433A]  | -               | -                | -           |
| Fab-CH23 [M428L/N434S] | 68              | 35               | 20          |
| Fab-CH23-CH23          | 250             | 4,5              | 14          |
| IgG                    | 280             | 9,3              | 11          |

### Ejemplo 6: Farmacocinética de variantes de Fab-CH23: en ratones

Se determinaron los perfiles de concentración promedio en plasma tras una única dosis IV de 5 mg/kg de los anticuerpos bivalentes o los polipéptidos monoméricos que contienen Fc que comprenden el mismo Fab que los anticuerpos de ratones Balb/c machos y en la Figura 6 se muestran los datos y en la Tabla 5 se resumen los parámetros PK. La variabilidad intersujeto era relativamente alta para Fab-CH23 y se observó una disminución significativa de la concentración en plasma tras 96 horas de dosificación, sugiriendo una posible inmunogenicidad (por ejemplo, aclaramiento mediante anticuerpos de ratón dirigidos contra Ig humana, AHA, contra las construcciones). El aclaramiento (CL) para Fab-CH23 fue menor y comparable al CL de las IgG típicas a 0,3 ml/h/kg, y el  $T_{1/2}$  fue de 173 h (~7,2 d). Las velocidades de CL para Fab-CH23-HEK y Fab-CH23[H310A/H433A], a 18 y 14 ml/h/kg, respectivamente, fueron mucho mayores que las de la IgG natural a 0,3 ml/h. Por consiguiente, el  $T_{1/2}$  fue mucho más corto para estas dos variantes a 12 y 11 horas, respectivamente, en comparación con la IgG natural (173 horas). Cuando Fab-CH23-HEK se coadministró mediante la ruta intraperitoneal con 10 mg de manano (un inhibidor natural de los receptores de manosa), el CL aumentó 2 veces en comparación con Fab-CH23 sin manano, lo que indica que el aclaramiento mediado por el receptor de manosa es un mecanismo de aclaramiento principal de Fab-CH23-HEK. Fab-CH23 y Fab-CH23 [M428L/N434S] mejoraron la PK sobre Fab-CH23-HEK y Fab-CH23[H310A/H433A] con un CL de ~9 ml/h/kg y un  $T_{1/2}$  de 32 y 42 h, respectivamente. El tándem Fab-CH23-CH23 tenía el CL más lento (3 ml/h/kg) y el  $T_{1/2}$  más largo (97 h) entre todas las fusiones Fab monoméricas. De forma similar a la IgG natural, las concentraciones en plasma de Fab-CH23-CH23 disminuyeron también drásticamente 96 h después de la dosificación indicando que la inmunogenicidad potencial puede ser también responsable de todo el aclaramiento de Fab-CH23-CH23.

Tabla 5: Parámetros farmacocinéticos de diversas fusiones Fab-CH23

| Variantes              | ABC <sub>inf</sub> (µg·h/ml) | ABC <sub>extrap</sub> (%) | Co(µg/ml) | $T_{1/2}$ (h) | CL (ml/h/ kg) | $V_{dss}$ (ml/kg) |
|------------------------|------------------------------|---------------------------|-----------|---------------|---------------|-------------------|
| Fab-CH23-HEK           | 323                          | 1                         | 92        | 12            | 18            | 78                |
| Fab-CH23-HEK +m        | 508                          | 0                         | 91        | 14            | 10            | 42                |
| Fab-CH23               | 579                          | 1                         | 70        | 32            | 9,0           | 177               |
| Fab-CH23 [H310A/H433A] | 364                          | 0                         | 72        | 11            | 14            | 93                |
| Fab-CH23 [M428L/N434S] | 548                          | 1                         | 58        | 42            | 9,2           | 213               |
| Fab-CH23-CH23          | 1288                         | 20                        | 95        | 97            | 3,0           | 323               |
| IgG                    | 5955                         | 62                        | 140       | 173           | 0,3           | 78                |

### Ejemplo 7: Procedimientos experimentales

#### 25 Construcción del plásmido y expresión de la proteína

El plásmido de expresión del fragmento Fc natural se construyó como una etiqueta de hexahistidina en el extremo N

seguido por la región constante gamma 1 humana que comienza con Gly<sup>236</sup>. Todas las construcciones de plásmidos y la mutagénesis se llevaron a cabo con el kit de clonación de la PCR In-Fusion dry-down (Clontech, Mountain View, CA). Se generaron construcciones mutacionales mediante la PCR con los cebadores que generan las sustituciones de aminoácidos deseadas. El producto de la PCR resultante se trató con el potenciador de la clonación InFusion tras la inserción en un vector de expresión que se había tratado con XbaI y EcoRI (New England Biolab, Ipswich, MA). Se construyó el vector de expresión de las variantes Fab-monoFc mediante amplificación de la PCR de una construcción que codifica el fragmento Fab de un anticuerpo dirigido contra KLH y monoFc. Para la producción de proteínas de las variantes Fc N-glicosiladas, se transfectaron transitoriamente células HEK293F con los plásmidos de expresión utilizando el reactivo 293fectin y se hicieron crecer en medio FreeStyle293 de acuerdo con el protocolo del fabricante (Invitrogen). Se recogió el medio acondicionado mediante centrifugación a 2.000 x g durante 10 min 6 días después de la transfección. Para las variantes de IgG y Fab-monoFc, se transfectaron células CHO con los plásmidos de expresión mediante Lipofectamine 2000 (Invitrogen, Grand Island, NY). Se seleccionaron los clones estables con 50 ug/ml de G418 y 50 nM de metotrexato durante 2 a 3 semanas. El medio acondicionado se recogió mediante centrifugación y se filtró el sobrenadante mediante filtros de 0,2 um para la posterior purificación. Se confirmó la expresión mediante SDS-PAGE en condiciones reductoras seguido por inmunotransferencia con anticuerpo conjugado con HRP dirigido contra His G (Invitrogen, Grand Island, NY) o anticuerpo dirigido contra Fc humano (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO).

#### Purificación de proteínas

Para la purificación del dominio Fc natural y las variantes Fc N-glicosiladas diseñadas mediante ingeniería genética, se cargó medio acondicionado sobre una columna de quelación HiTrap (GE healthcare, Piscataway, NJ) preequilibrada con solución salina tamponada con fosfato (PBS) (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10 mM, NaCl 137 mM, y KCl 2,7 mM, pH 7,2). Las proteínas de unión no específicas se lavaron por separado con tampón A (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10 mM, NaCl 137 mM, y KCl 2,7 mM, imidazol 10 mM, pH 7,6), y la proteína se eluyó con un gradiente lineal de tampón A a tampón B (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1 mM, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 10 mM, NaCl 137 mM, y KCl 2,7 mM, imidazol 250 mM, pH 7,6). La fracción combinada se cargó sobre la columna de proteína A HiTrap (GE healthcare, Piscataway, NJ) se preequilibró con tampón PBS y se eluyó con el tampón de elución de la proteína A (ácido cítrico 50 mM, pH 3,3). La solución de proteína resultante se neutralizó mediante una solución tris-HCl 1 M (pH 8,0), se intercambió el tampón con PBS, se concentró y almacenó a -80 °C. Se confirmó la pureza mediante SDS-PAGE (4-20% de gel de gradiente lineal, Invitrogen, Grand Island, NY). Para las variantes Fab-monoFc, se cargó el medio acondicionado sobre la columna de proteína G HiTrap (GE healthcare, Piscataway, NJ) se preequilibró con PBS y se eluyó con el tampón de elución de la proteína G (ácido cítrico 100 mM, pH 2,5). La fracción combinada se neutralizó mediante una solución tris-HCl 1 M (pH 8,0), se concentró hasta 10 ml y se cargó sobre una columna Superdex200 (Hiload 26/60 calidad prep, GE healthcare, Piscataway, NJ), preequilibrada con tampón PBS. Se confirmó la pureza mediante SDS-PAGE y se evaluó el estado monomérico de la proteína N-glicosilada mediante Superdex 200 10/300 GL (GE Healthcare, Piscataway, NJ) utilizando una columna de 10 x 300 mm. La solución de proteína purificada se esterilizó mediante un filtro de 0,22 um y se almacenó a -80 °C. Se consiguió la cuantificación de la proteína midiendo la absorbancia a 280 nm y calculando la concentración utilizando el coeficiente de absorción molar de acuerdo con Pace y col., Protein Sci. 4, 2411-2423 (1995).

#### Caracterización biofísica

Cromatografía de exclusión molecular-Dispersión de luz multiángulos (SEC-MALS): - Se determinaron la masa molar promedio y el estado de oligomerización del dominio Fc natural y las variantes Fc N-glicosiladas utilizando SEC-MALS. Se prepararon muestras de proteínas a concentraciones que variaban desde 4,5-7,0 mg/ml en tampón PBS. Se inyectó cada muestra (200 µg) en una columna analítica Superdex 200 10/300 GL (GE Healthcare, Piscataway, NJ) conectada a un sistema de HPLC Agilent 1100 (Foster City, CA). Se analizaron los picos de la proteína en la columna dimensionada utilizando un detector de dispersión de la luz de tres ángulos MiniDawn de Wyatt. Se llevaron a cabo la cromatografía y el análisis de dispersión de la luz a 25 °C. El sistema de dispersión de luz MiniDawn se calibró de acuerdo con las instrucciones del fabricante con tolueno y se normalizaron utilizando albúmina de suero bovino (Thermo Scientific, Rockford, IL). Se llevaron a cabo la adquisición y el análisis de datos utilizando el software Asta de Wyatt con un valor  $\Delta n/\Delta c$  de 0,185 ml/g para la proteína. Se determinó la contribución de la masa de glicano aplicando el molde de conjugación de la proteína en el software Astra utilizando un valor de  $\Delta n/\Delta c$  aproximado de 0,14 ml/g para el resto de azúcar.

Calorimetría diferencial de barrido (DSC): - Estabilidades térmicas del dominio Fc natural y variantes de Fc N-glicosiladas diseñadas mediante ingeniería genética utilizando el sistema DSC capilar de MicroCal, VP-DSC (Northampton, MA). Las soluciones de proteína y tampón se centrifugaron y desgasificaron antes de la carga en el instrumento. La muestra de proteína a una concentración de 0,02 mM en tampón PBS se introdujo en la celda de muestra. Ambas celdas se calentaron de 10 °C a 100 °C a una velocidad de barrido de 100 °C por hora. La diferencia en la capacidad calorífica entre la celda de muestra y la celda de referencia se registró y analizó utilizando el software Origin7.0 de MicroCal. Se generó un termograma de valores iniciales con tampón PBS en las celdas de muestra y de referencia. Los datos se utilizaron para sustraer cualquier sistema de calor no asociado con la desnaturalización de la proteína.

Electroforesis capilar en gel - El porcentaje relativo de las especies glicosiladas y no glicosiladas en cada muestra de

proteína se midió en condiciones reductoras utilizando un calibre LabChip GXII (Hopkinton, MA). Se preparó el control desglucosilado incubando la proteína con Glycannase F (ProZyme, Hayward, CA) durante tres horas a 37 °C en tampón PBS. Las muestras para el ensayo del calibre se prepararon de acuerdo con las instrucciones del fabricante. En resumen, 2 µl de muestra de proteína (4,5 - 7,0 mg/ml) se mezclaron con 7 µl de tampón de muestra SDS y se incubaron a 100 °C durante 5 min en una placa de 96 pocillos. El volumen de la muestra se ajustó hasta un volumen final de 40 µl con agua desionizada. Se llevaron a cabo la carga, la separación, la tinción y la destinción de la proteína en una oblea de cuarzo fotográfica con microcanales de acuerdo con el programa LabChip Protein Express. Se generó un electroferograma de cada muestra que se analizó utilizando el software LabChip GX v.3.0.

#### Ensayos de unión a FcRn

Se llevaron a cabo los ensayos de unión a FcRn utilizando un biosensor de resonancia de plasmón superficial (SPR), Biacore 3000 (Biacore, Uppsala, Suecia). El chip sensor CM5, tensioactivo P20, N-etil-N-(3-dimetilaminopropil)carbodiimida (EDC), N-hidroxisuccinimida (NHS), y etanolamina 1 M (pH 8,5) se adquirieron de GE Healthcare (Piscataway, NJ). Se llevaron a cabo los experimentos SPR a 25°C en tampón PBS (pH 6,0) con P20 al 0,005%. Se adquirió una proteína FcRn de ratón de ARVYS Proteins, Inc. (Stamford, CT). Todos los experimentos se repitieron tres veces.

Se llevó a cabo el ensayo de unión 1 a 1 - inmovilización de las variantes Fc N-glicosiladas diseñadas mediante ingeniería genética o las variantes Fc N-glicosiladas diseñadas mediante ingeniería genética Fab-mono en un chip sensor CM5 mediante el procedimiento de acoplamiento de la amina. En resumen, 20 µM de solución de proteína se diluyeron 20 veces en acetato 10 mM (pH 4,5) y se inyectaron sobre la superficie de un biosensor que se había preactivado con una inyección de 20 µl de una mezcla 1:1 de EDC 200 mM y NHS 50 mM, seguido por la inyección de HCl-etanolamina 1 M (pH 8,5). Para la superficie de referencia, se activó una celda de flujo mediante la mezcla EDC-NHS y se desactivó mediante etanolamina sin proteína. Se midió la unión en el equilibrio inyectando 150 µl de proteína FcRn soluble de ratón a un caudal de 5 µl/min. Las superficies del sensor se regeneraron aplicando tampón PBS (pH 7,2) durante 1 min. Los inventores observaron que todas las curvas de unión de cada concentración alcanzaron la meseta al final de la inyección (30 min). Se registraron las UR en estado estacionario al final de la inyección (28 min) y se calculó la constante de disociación del equilibrio (Kd) utilizando el software BIAevaluation (GE Healthcare, Piscataway, NJ).

Ensayo de avidéz: - Para evaluar la avidéz del analito (molécula en fase móvil), se llevó a cabo el "formato de ensayo de avidéz" basado en SPR como se ha descrito anteriormente. Véanse, por ejemplo, Zalevsky y col., Nature Biotech. 28, 157-159; Yeung y col., J. Immunol. 182, 7663-7671 (2009); y Suzuki y col., J. Immunol. 184, 1968-1976 (2010). Es decir, se inmovilizó la proteína FcRn de ratón sobre un chip sensor CM5 mediante el procedimiento de acoplamiento de la amina como se ha descrito anteriormente. Se midió la unión en el equilibrio inyectando 30 µl de variantes Fab-monoFc sobre la superficie de FcRn a un caudal de 2 µl/min. Las superficies del sensor se regeneraron aplicando tris-HCl 100 mM, pH 8,0 durante 1 min. Se registró la UR en estado estacionario al final de la inyección (14 min), y se calculó la constante de unión del equilibrio (Kd) utilizando el software BIAevaluation (GE Healthcare, Piscataway, NJ).

Ensayo de cambio de pH: Para evaluar la eficacia de la disociación de las variantes Fab-monoFc de FcRn a pH neutro, se empleó el "ensayo de cambio de pH" modificado a partir del procedimiento que se había indicado anteriormente. Véanse, por ejemplo, Wang y col., Drug Metab. Dispos. 39, 1469-1477 (2011). En este ensayo, se inmovilizó la proteína FcRn de ratón sobre un chip sensor CM5 mediante el procedimiento de acoplamiento de la amina. Se midió la unión inyectando 100 µM de variantes Fab-monoFc en tampón de análisis (PBS, pH 6,0) seguido por la inyección tanto de tampón de análisis (PBS, pH 6,0) o tampón neutro (PBS, pH 7,2) solo sobre la superficie de FcRn a un caudal de 50 µl/min.

#### Cristalización y determinación de la estructura

Se concentró la proteína hasta 30 mg/ml en tampón tris (tris-HCl 25 mM, NaCl 150 mM, pH 7,5) para los ensayos de cristalización de monoFc (Fc-CH23-N364/N407). Se llevó a cabo la cristalización utilizando el procedimiento de difusión de vapor por gota colgante a 18 °C, con las gotas que contienen 0,2 µl de solución de proteínas y 0,2 µl de la solución de depósito equilibrada frente a la solución de depósito. Se obtuvieron cristales trigonales grandes utilizando sulfato de amonio 2,2 M y fluoruro de sodio 200 mM como un precipitante. Se crioprotegieron los cristales en presencia de glicerol al 20% en el licor madre y se enfriaron rápidamente de forma inmediata en nitrógeno líquido. Se recogieron los datos de difracción de rayos X de un monocristal a una resolución de 1,9 Å en el SER-CAT beamline 22-ID, Advanced Photon Source (APS), Argonne, IL. Los datos se indexaron, se integraron, y se escalieron con HKL2000 (en la Tabla 2 se proporcionan las estadísticas). Los cristales pertenecían al grupo espacial P3<sub>1</sub>2, con dimensiones de la celdilla de a=b=64,22 Å y c=146,94 Å. La estructura se resolvió mediante sustitución molecular con PHASER utilizando la estructura cristalina de un dominio Fc humano mutado potenciado para ADCC (PDB ID: 2QL1) (Oganesyan y col., Mol. Immunol. 45, 1872-1882 (2008)) como modelo de búsqueda. Después que se localizara el monómero monoFc, se sometió el modelo inicial a minimización con BUSTER y se reconstruyó adicionalmente utilizando COOT (A Molecular Graphics Program). Varios ciclos de refinamiento alternando con reconstrucción produjeron el modelo refinado final correspondiente a un R<sub>crist</sub> de 0,25 y R<sub>libre</sub> de 0,259 (se proporcionan las estadísticas de refinamiento en la Tabla 6).

Tabla 6: Resumen de los datos de SEC-MALS

| Variantes Fc N-glicosiladas |          | PM teórico (Da) | Masa de la proteína (Da) | Masa de glicano (Da) |
|-----------------------------|----------|-----------------|--------------------------|----------------------|
| Fc natural                  | Monómero | 25.010          | Ninguno                  | Ninguno              |
|                             | Dímero   | 50.020          | 51.860                   | 5.958                |
| Fc-N364                     | Monómero | 25.037          | 28.390                   | 5.062                |
|                             | Dímero   | 50.074          | 47.490                   | 3.161                |
| Fc-N368                     | Monómero | 24.984          | 29.370                   | 5.539                |
|                             | Dímero   | 49.964          | 42.110                   | 2.939                |
| Fc-N405                     | Monómero | 24.915          | 27.090                   | 4.389                |
|                             | Dímero   | 49.830          | Ninguno                  | Ninguno              |
| Fc-N407*                    | Monómero | 24.934          | 32.640                   | 5.421                |
|                             | Dímero   | 49.868          | 33.580                   | 5.584                |
| Fc-N364/N407                | Monómero | 24.963          | 29.270                   | 6.392                |
|                             | Dímero   | 49.926          | Ninguno                  | Ninguno              |

\*Se observaron dos picos amplios con masa molecular promedio entre el monómero y el dímero # SEC-MALS analito con índice de reflexión incluido y se utilizaron detectores UV en la determinación de la masa molar de monómero y dímero, así como de proteína y glicano

#### Estudio farmacocinético en ratones

5 Estudios con animales - Se adquirieron ratones Balb/c machos (machos de ~8 semanas de edad) de Charles River (Wilmington, MA). Se llevaron a cabo todos los estudios de acuerdo con la guía del National Institutes of Health para el cuidado y uso de recursos animales. Seis ratones por grupo recibieron una única dosis de variantes Fab-monoFc mediante ruta intravenosa. La dosis administrada de 5 mg/kg se basó en los pesos corporales previstos más recientes. Se prepararon las muestras de ensayo en PBS y el volumen de la dosificación fue de 4 ml/kg. A 0, 10 min, 6, 24 h, 2, 3, 4, 7, 14 y 21 días después de la dosis, se recogieron muestras de sangre de 10 µl procedentes de la vena de la cola mediante tubos capilares y se diluyeron inmediatamente en 90 µl de tampón Rxxip A (Gyros AB, Upsala, Suecia). Se centrifugó la muestra a 3000 x g durante 10 minutos a 4°C y el sobrenadante se transfirió a otro tubo y se congeló a -80°C para un futuro análisis.

15 Análisis de la muestra - Se cuantificaron las muestras de ensayo utilizando anticuerpo de cabra biotinilado dirigido contra IgG humana (Bethyl Laboratories) capturado sobre perlas revestidas de estreptavidina (columna de captura por afinidad de la microestructura Gyrolab CD). Se prepararon los patrones de referencia y los controles de calidad en tampón Rxxip A, y se diluyeron las muestras de estudio en el intervalo de cuantificación del ensayo. Tras capturar en la columna de captura por afinidad, las variantes unidas a Fab-monoFc o la IgG natural bivalente se detectaron con anticuerpo de cabra marcado con Alexa647 dirigido contra IgG humana (Molecular Probes). La señal fluorescente en la columna permitió la detección de las variantes unidas. El instrumento Gyrolab leyó las unidades de respuesta en un contexto de un tubo fotomultiplicador al 1%. Se determinaron las concentraciones de la muestra mediante interpolación a partir de una curva patrón que se ajustó utilizando un ajuste de curva logística de 5 parámetros con una respuesta  $1/y^2$  ponderada en Watson (Versión 7.4). El intervalo de cuantificación del ensayo para las variantes Fab-monoFc era de 10,0 µg/ml a 41,0 ng/ml en plasma de ratón Balb/c al 100%. El intervalo de cuantificación del ensayo para la variante de IgG bivalente fue de 4,0 µg/ml a 16,3 ng/ml en plasma de ratón Balb/c al 100%.

25 Análisis farmacocinético - Se calcularon los parámetros farmacocinéticos en plasma para las variantes monoFc de N-glicosilación de Fab diseñadas mediante ingeniería genética utilizando procedimientos no compartimentales con la ayuda de Watson (Versión 7.4). Se analizaron los datos en la fase lineal-log terminal mediante regresión lineal para estimar la constante de velocidad terminal (k) y la semivida ( $T_{1/2} = 0,693/k$ ). Se utilizaron al menos los últimos tres puntos temporales para calcular k. Se determinó el  $ABC_{inf}$  total como la suma del  $ABC_{0-último}$  y  $ABC_{extrap}$ , donde  $ABC_{0-último}$  se calculó a partir de 0 hasta el último punto temporal ( $T_{último}$ ) con la última concentración medible ( $C_{última}$ ) utilizando la regla trapezoidal lineal y  $ABC_{extrap}$  era la porción extrapolada del área de  $T_{último}$  hasta infinito utilizando  $C_{última}/k$ . Se calculó el aclaramiento total del cuerpo (CL) basándose en las concentraciones en plasma como la dosis/  $ABC_{inf}$ , y se calculó el volumen de distribución en estado estacionario ( $V_{dss}$ ) como  $CL \times ABC_{inf}/k$ , donde

ABMC era el área bajo la curva en el primer momento. La variabilidad intersujeto era relativamente mayor para IgG que para otras construcciones.

**Tabla de LISTADO DE SECUENCIAS**

5 En las SEQ ID NOS: 1-8, los restos en **negrita** denotan las posiciones seleccionadas lógicamente para la N-glicosilación de acuerdo con la presente invención. En las SEQ ID NOS 17-88, los restos en **negrita** denotan las variaciones de aminoácidos/ácidos nucleicos, la primera región señalada es la secuencia señal/líder, y cuando está presente, la segunda región subrayada denota el enlazador.

| SEQ ID NO: | DETALLES                  |   |
|------------|---------------------------|---|
| 1          | hlgG1 Desde el resto 344- | REP <u>Q</u> YVT LPPSRDELTK NQV <b>SLTCLVK</b> GFYPSDIAVE WESNGQPEN <b>N</b><br>YKTT <b>PPV</b> LDS_DGSFFLYSKL TVDKSRW <b>Q</b> QG NVFSCSV <b>M</b> HE ALHNH <b>Y</b> TQKS<br>LSLSPGK                                   |
| 2          | hlgG2 Desde el resto 344- | REP <u>Q</u> YVT LPPSREEMTK NQV <b>SLTCLVK</b> GFYPSDISVE WESNGQPEN <b>N</b><br>YKTT <b>PPM</b> LDS DGSFFLYSKL TVDKSRW <b>Q</b> QG NVFSCSV <b>M</b> HE ALHNH <b>Y</b> TQKS<br>LSLSPGK                                   |
| 3          | hlgG3 Desde el resto 344- | REP <u>Q</u> YVT LPPSQEEMTK NQV <b>SLTCLVK</b> GFYPSDIAVE WESNGQPEN <b>N</b><br>YKTT <b>PPV</b> LDS DGSFFLYSRL TVDKSRW <b>Q</b> EG NVFSCSV <b>M</b> HE ALHNH <b>Y</b> TQKS<br>LSLSLGK                                   |
| 4          | hlgG4 Desde el resto 344- | REP <u>Q</u> YVT LPPSQEEMTK NQV <b>SLTCLVK</b> GFYPSDIAVE WESNGQPEN <b>N</b><br>YKTT <b>PPV</b> LDS DGSFFLYSRL TVDKSRW <b>Q</b> EG NVFSCSV <b>M</b> HE ALHNH <b>Y</b> TQKS<br>LSLSLGK                                   |
| 5          | mlgG1 Desde el resto 344- | KAP <u>Q</u> YVT IPPPKQMAK DKV <b>SLTCMIT</b> DEFPEDITVE WQWNGQPA <b>E</b> N<br>YKNT <b>Q</b> PIMNT NGSYFVYSKL NVQKSNW <b>E</b> AG NTFTCSV <b>L</b> HE GLHNH <b>H</b> TEKS<br>LSHSPGK                                   |
| 6          | mlG2A Desde el resto 344- | RAP <u>Q</u> VYV LPPPEEEMTK KQV <b>TLTCMVT</b> DFMPEDIYVE WTNNGKTE <b>L</b> N<br>YKNT <b>E</b> PVLD <b>S</b> DGSYFMYSKL RVEKKNW <b>V</b> ER NSYSCSV <b>V</b> HE GLHNH <b>H</b> TTKS<br>FSRTPGK                          |
| 7          | mlG2B Desde el resto 344- | RAP <u>Q</u> YVI LPPPAEQLSR KDV <b>SLTCLV</b> V GFNPGDISVE WTSNGHTE <b>E</b> N<br>YKDT <b>A</b> PVLD <b>S</b> DGSYFIYSKL NMKTSK <b>W</b> EKT DSFSCN <b>V</b> RHE GLKN <b>Y</b> LKKT<br>ISRSPGK                          |
| 8          | mlgG3 Desde el resto 344- | QTP <u>Q</u> YVT IPPPREQMSK KKV <b>SLTCLVT</b> NEFSEAISVE WERNGELE <b>Q</b> D<br>YKNT <b>P</b> PILDS DGTYFLYSKL TVDTDSW <b>L</b> QG EIFTCSV <b>V</b> HE ALHNH <b>H</b> TQKN<br>LSRSPGK                                  |
| 9          | hlgG1 Desde el resto 396- | GGPSV FLFPPKPKDT LMISRT <b>P</b> EVT CVVV <b>D</b> VSHED_P <b>E</b> VKFNWYVD<br>GVEV <b>H</b> NA <b>K</b> TK PREEQYNSTY RVVSVLT <b>V</b> LH QDWLNG <b>K</b> EYK CKVSN <b>K</b> ALPA<br>PIEKT <b>I</b> SKAK GQP          |
| 10         | hlgG2 Desde el resto 396- | AGPSV FLFPPKPKDT LMISRT <b>P</b> EVT CVVV <b>D</b> VSHED_P <b>E</b> VQFNWYVD<br>GVEV <b>H</b> NA <b>K</b> TK PREEQFNSTF RVVSVLT <b>V</b> VH QDWLNG <b>K</b> EYK CKVSN <b>K</b> GLPA<br>PIEKT <b>I</b> SKTK GQP          |
| 11         | hlgG3 Desde el resto 396- | GGPSV FLFPPKPKDT LMISRT <b>P</b> EVT CVVV <b>D</b> VSHED_P <b>E</b> VQFKWYVD<br>GVEV <b>H</b> NA <b>K</b> TK PREEQYNSTF RVVSVLT <b>V</b> LH QDWLNG <b>K</b> EYK CKVSN <b>K</b> ALPA<br>PIEKT <b>I</b> SKTK GQP          |
| 12         | hlgG4 Desde el resto 396- | GGPSV FLFPPKPKDT LMISRT <b>P</b> EVT CVVV <b>D</b> V <b>S</b> QED_P <b>E</b> VQFNWYVD<br>GVEV <b>H</b> NA <b>K</b> TK PREEQFNSTY RVVSVLT <b>V</b> LH QDWLNG <b>K</b> EYK CKVSN <b>K</b> GLPS<br>SIEKT <b>I</b> SKAK GQP |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES                                   |   |
|------------|--|---|
| 13         | mIgG1 Desde el resto 396-                  | EVSSV FIFPPKPKDV LTITLTPKVT CVVVDISKDD PEVQFSWFVD<br>DVEVHTAQ <del>TQ</del> PREEQFNSTF RSVSELPIMH QDWLNGKEFK CRVNSAAFPA<br>PIEKTISKTK GRP   |
| 14         | mIg2A Desde el resto 396-                  | GGPSV FIFPPKIKDV LMISLSP <del>I</del> VT CVVVDVSEDD PDVQISWFVN<br>NVEVHTAQ <del>TQ</del> THREDYNSTL RVVSALPIQH QDWMGKKEFK CKVNNKDLPA<br>PIERT ISKPKGSV  |
| 15         | mIg2B Desde el resto 396-                  | GGPSV FIFPPNIKDV LMISLTPKVT CVVVDVSEDD PDVQISWFVN<br>NVEVHTAQ <del>TQ</del> THREDYNSTI RVVSTLPIQH QDWMGKKEFK CKVNNKDLPS<br>PIERTISKIK GLV   |
| 16         | mIgG3 Desde el resto 396-                  | GGPSV FIFPPKPKDA LMISLTPKVT CVVVDVSEDD PDVHVSWFVD<br>NKEVHTA <del>WTQ</del> PREAQYNSTF RVVSALPIQH QDWMRGKEFK CKVNNKALPA<br>PIERTISKPK GRA   |
| 17         | variantes CH23:                            | MKAVVLAVAL VFLTGSQARH HHHHHGGGGS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV  |
|            | Proteína IgG1-CH23-N347                    | TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL<br>HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREP <del>N</del> VT TLPPSREEMT<br>KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK<br>LTVDKSRWOO GNVFSCSVMH EALHNHYTOK SLSLSPGK  |
| 18         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-N347      | ATGAAAGCTG TGGTGCTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br>GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT<br>TCCCCCAA ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC<br>ACATGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA<br>CTGGTACGTG GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG<br>AGGAGCAGTA CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCTT CACCGTCTTG<br>CACCAGGACT GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br>AGCCCTCCCA GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC<br>CCCGAGAACC AAACGTGACC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC<br>AAGAACCAGG TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA<br>CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA<br>CCACGCCTCC CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTATAGCAAG<br>CTCACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC<br>CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC<br>TGTCCCCGGG TAAATGA |
| 19         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-CH23-N364 | MKAVVLAVAL VFLTGSQARH HHHHHGGGGS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br>TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL<br>HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT<br>KNQV <del>N</del> L <del>T</del> CLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK<br>LTVDKSRWOO GNVFSCSVMH EALHNHYTOK SLSLSPGK   |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES                                       |                   |                   |                   |            |             |
|------------|--|-------------------|-------------------|-------------------|------------|-------------|
| 20         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-<br>N364      | ATGAAAGCTG        | TGGTGCTGGC        | CGTGGCTCTG        | GTCTTCCTGA | CAGGGAGCCA  |
|            |  | GGCTCGGCAT        | CATCATCACC        | ATCACGGCGG        | GGGACCGTCA | GTCTTCCTCT  |
|            |  | TCCCCC AAA        | ACCCAAGGAC        | ACCCTCATGA        | TCTCCCGGAC | CCCTGAGGTC  |
|            |  | ACATGCGTGG        | TGGTGACGT         | GAGCCACGAA        | GACCTGAGG  | TCAAGTTCAA  |
|            |  | CTGGTACGTG        | GACGGCGTGG        | AGGTGCATAA        | TGCCAAGACA | AAGCCGCGGG  |
|            |  | AGGAGCAGTA        | CAACAGCACG        | TACCGTGTGG        | TCAGCGTCCT | CACCGTCCTG  |
|            |  | CACCAGGACT        | GGCTGAATGG        | CAAGGAGTAC        | AAGTGCAAGG | TCTCCAACAA  |
|            |  | AGCCCTCCCA        | GCCCCATCG         | AGAAAACCAT        | CTCCAAAGCC | AAAGGGCAGC  |
|            |  | CCCGAGAACC        | ACAGGTGTAC        | ACCCTGCCCC        | CATCCCGGGA | GGAGATGACC  |
|            |  | AAGAACCAGG        | <b>TCAACCTGAC</b> | <b>CTGCCTGGTC</b> | AAAGGCTTCT | ATCCCAGCGA  |
|            |  | CATCGCCGTG        | GAGTGGGAGA        | GCAATGGGCA        | GCCGGAGAAC | AACTACAAGA  |
|            |  | CCACGCCTCC        | CGTGCTGGAC        | TCCGACGGCT        | CCTTCTTCCT | CTATAGCAAG  |
|            |  | CTCACCGTGG        | ACAAGAGCAG        | GTGGCAGCAG        | GGGAACGTCT | TCTCATGCTC  |
|            |  | CGTGATGCAT        | GAGGCTCTGC        | ACAACCACTA        | CACGCAGAAG | AGCCTCTCCC  |
|            |  | TGTCCCCGGG        | TAAATGA           |                   |            |             |
| 21         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-<br>CH23-N366 | <u>MKAVVLAVAL</u> | <u>VFLTGSQARH</u> | HHHHHGGGPS        | VFLFPPKPKD | TLMISRTPEV  |
|            |  | TCVVVDVSHE        | DPEVKFNWYV        | DGVEVHNAKT        | KPREEQYNST | YRVVSVLTVL  |
|            |  | HQDWLNGKEY        | KCKVSNKALP        | APIEKTISKA        | KGQPREPQVY | TLPPSREEMT  |
|            |  | KNQVSLNCTV        | KGFYPSDIAV        | EWESNGQPEN        | NYKTTTPVLD | SDGSFFFLYSK |
|            |  | LTVDKSRWQQ        | GNVFSCSVMH        | EALHNHYTQK        | SLSLSPGK   |             |
| 22         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-<br>N366      | ATGAAAGCTG        | TGGTGCTGGC        | CGTGGCTCTG        | GTCTTCCTGA | CAGGGAGCCA  |
|            |  | GGCTCGGCAT        | CATCATCACC        | ATCACGGCGG        | GGGACCGTCA | GTCTTCCTCT  |
|            |  | TCCCCC AAA        | ACCCAAGGAC        | ACCCTCATGA        | TCTCCCGGAC | CCCTGAGGTC  |
|            |  | ACATGCGTGG        | TGGTGACGT         | GAGCCACGAA        | GACCTGAGG  | TCAAGTTCAA  |
|            |  | CTGGTACGTG        | GACGGCGTGG        | AGGTGCATAA        | TGCCAAGACA | AAGCCGCGGG  |
|            |  | AGGAGCAGTA        | CAACAGCACG        | TACCGTGTGG        | TCAGCGTCCT | CACCGTCCTG  |
|            |  | CACCAGGACT        | GGCTGAATGG        | CAAGGAGTAC        | AAGTGCAAGG | TCTCCAACAA  |
|            |  | AGCCCTCCCA        | GCCCCATCG         | AGAAAACCAT        | CTCCAAAGCC | AAAGGGCAGC  |
|            |  | CCCGAGAACC        | ACAGGTGTAC        | ACCCTGCCCC        | CATCCCGGGA | GGAGATGACC  |
|            |  | AAGAACCAGG        | TCAGCCTGAA        | <b>CTGCACCGTC</b> | AAAGGCTTCT | ATCCCAGCGA  |
|            |  | CATCGCCGTG        | GAGTGGGAGA        | GCAATGGGCA        | GCCGGAGAAC | AACTACAAGA  |
|            |  | CCACGCCTCC        | CGTGCTGGAC        | TCCGACGGCT        | CCTTCTTCCT | CTATAGCAAG  |
|            |  | CTCACCGTGG        | ACAAGAGCAG        | GTGGCAGCAG        | GGGAACGTCT | TCTCATGCTC  |
|            |  | CGTGATGCAT        | GAGGCTCTGC        | ACAACCACTA        | CACGCAGAAG | AGCCTCTCCC  |
|            |  | TGTCCCCGGG        | TAAATGA           |                   |            |             |
| 23         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-<br>CH23-N368 | <u>MKAVVLAVAL</u> | <u>VFLTGSQARH</u> | HHHHHGGGPS        | VFLFPPKPKD | TLMISRTPEV  |
|            |  | TCVVVDVSHE        | DPEVKFNWYV        | DGVEVHNAKT        | KPREEQYNST | YRVVSVLTVL  |
|            |  | HODWLNKEY         | KCKVSNKALP        | APIEKTISKA        | KGOPREPOVY | TLPPSREEMT  |
|            |  | KNQVSLTCNV        | TGFYPSDIAV        | EWESNGQPEN        | NYKTTTPVLD | SDGSFFFLYSK |
|            |  | LTVDKSRWQQ        | GNVFSCSVMH        | EALHNHYTQK        | SLSLSPGK   |             |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES                                       |  |
|------------|--|--|
| 24         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-<br>N368      | <p>ATGAAAGCTG TGGTGCTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br/> GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT<br/> TCCCCCAAAA ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC<br/> ACATGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA<br/> CTGGTACGTG GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG<br/> AGGAGCAGTA CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCCT CACCGTCCCTG<br/> CACCAGGACT GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br/> AGCCCTCCCA GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC<br/> CCCGAGAACC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC<br/> AAGAACCAGG TCAGCCTGAC CTGCA<b>AAC</b>GTG <b>ACC</b>GGCTTCT ATCCCAGCGA<br/> CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA<br/> CCACGCCCTCC CGTGTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTATAGCAAG<br/> CTCACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGAACGTCT TCTCATGCTC<br/> CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC<br/> TGTCCCCGGG TAAATGA</p> |
| 25         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-<br>CH23-N390 | <p><u>MKAVVLAVAL</u> <u>VFLTGSQARH</u> HHHHHGGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br/> TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL<br/> HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT<br/> KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQ<b>PEN</b> NY<b>T</b>TPPVLD SDGSFFLYSK<br/> LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK</p>  |
| 26         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-<br>N390      | <p>ATGAAAGCTG TGGTGCTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br/> GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT<br/> TCCCCCAAAA ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC<br/> ACATGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA<br/> CTGGTACGTG GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG<br/> AGGAGCAGTA CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCCT CACCGTCCCTG<br/> CACCAGGACT GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br/> AGCCCTCCCA GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC<br/> CCCGAGAACC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC<br/> AAGAACCAGG TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA<br/> CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC <b>AACTACACCA</b><br/> CCACGCCCTCC CGTGTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCCT CTATAGCAAG<br/> CTCACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGAACGTCT TCTCATGCTC<br/> CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC<br/> TGTCCCCGGG TAAATGA</p>         |
| 27         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-<br>CH23-N401 | <p><u>MKAVVLAVAL</u> <u>VFLTGSQARH</u> HHHHHGGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br/> TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL<br/> HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT<br/> KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQ<b>PEN</b> NY<b>K</b>TPPVLD <b>SN</b>GTFFLYSK<br/> LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK</p>   |



(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES                                   |  |   |  |  |  |
|------------|--|--|---|--|--|--|
| 28         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-N401      | ATGAAAGCTG<br>GGCTCGGCAT<br>TCCCCC AAA<br>ACATGCGTGG<br>CTGGTACGTG<br>AGGAGCAGTA<br>CACCAGGACT<br>AGCCCTCCCA<br>CCCGAGAACC<br>AAGAACCAGG<br>CATCGCCGTG<br>CCACGCCTCC<br>CTCACCGTGG<br>CGTGATGCAT<br>TGTC | TGGTGCTGGC<br>CATCATCACC<br>ACCCAAGGAC<br>TGGTGGACGT<br>GACGGCGTGG<br>CAACAGCACG<br>GGCTGAATGG<br>GCCCCATCG<br>ACAGGTGTAC<br>TCAGCCTGAC<br>GAGTGGGAGA<br>CGTGTGGAC<br>ACAAGAGCAG<br>GAGGCTCTGC<br>TAAATGA | CGTGGCTCTG<br>ATCACGGCGG<br>ACCCTCATGA<br>GAGCCACGAA<br>TACCGTGTGG<br>AGAAAACCAT<br>ACCCTGCCCC<br>GCAATGGGCA<br>TCCAACGGCA<br>GTGGCAGCAG<br>ACAACCACTA | GTCTTCCTGA<br>GGGACCGTCA<br>TCTCCCGGAC<br>GACCCTGAGG<br>TGCCAAGACA<br>TCAGCGTCTCT<br>AAGTGCAAGG<br>CTCCAAAGCC<br>CATCCCGGGA<br>AAAGGCTTCT<br>GCCGGAGAAC<br>CCTTCTTCTCT<br>GGGAACGTCT<br>CACGCAGAAG | CAGGGAGCCA<br>GTCTTCCTCT<br>CCCTGAGGTC<br>TCAAGTTCAA<br>AAGCCGCGGG<br>CACCCTCTCTG<br>TCTCCAACAA<br>AAAGGGCAGC<br>GGAGATGACC<br>ATCCAGCGA<br>AACTACAAGA<br>CTATAGCAAG<br>TCTCATGCTC<br>AGCCTCTCCC |
| 29         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-CH23-N405 | MKAVVLAVAL<br>TCVVVDVSHE<br>HQDWLNGKEY<br>KNQVSLTCLV<br>LTVDKSRWQQ   | VFLTGSQARH<br>DPEVKFNWYV<br>KCKVSNKALP<br>KGFYPSDIAV<br>GNVFSCSVMH  | HHHHHGGGPS<br>DGVEVHNAKT<br>APIEKTISKA<br>EWESNGQPEN<br>EALHNHYTQK   | VFLFPPKPKD<br>KPREEQYNST<br>KGQPREPQVY<br>NYKTPPVLD<br>SLSLSPGK  | TLMISRTPEV<br>YRVVSVLTVL<br>TLPPSREEMT<br>SDGSFNLTSK   |
| 30         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-N405      | ATGAAAGCTG<br>GGCTCGGCAT<br>TCCCCC AAA<br>ACATGCGTGG<br>CTGGTACGTG<br>AGGAGCAGTA<br>CACCAGGACT<br>AGCCCTCCCA<br>CCCGAGAACC<br>AAGAACCAGG<br>CATCGCCGTG<br>CCACGCCTCC<br>CTCACCGTGG<br>CGTGATGCAT<br>TGTC | TGGTGCTGGC<br>CATCATCACC<br>ACCCAAGGAC<br>TGGTGGACGT<br>GACGGCGTGG<br>CAACAGCACG<br>GGCTGAATGG<br>GCCCCATCG<br>ACAGGTGTAC<br>TCAGCCTGAC<br>GAGTGGGAGA<br>CGTGTGGAC<br>ACAAGAGCAG<br>GAGGCTCTGC<br>TAAATGA | CGTGGCTCTG<br>ATCACGGCGG<br>ACCCTCATGA<br>GAGCCACGAA<br>TACCGTGTGG<br>AGAAAACCAT<br>ACCCTGCCCC<br>GCAATGGGCA<br>TCCGACGGCT<br>GTGGCAGCAG<br>ACAACCACTA | GTCTTCCTGA<br>GGGACCGTCA<br>TCTCCCGGAC<br>GACCCTGAGG<br>TGCCAAGACA<br>TCAGCGTCTCT<br>AAGTGCAAGG<br>CTCCAAAGCC<br>CATCCCGGGA<br>AAAGGCTTCT<br>GCCGGAGAAC<br>CCTTCAACCT<br>GGGAACGTCT<br>CACGCAGAAG  | CAGGGAGCCA<br>GTCTTCCTCT<br>CCCTGAGGTC<br>TCAAGTTCAA<br>AAGCCGCGGG<br>CACCCTCTCTG<br>TCTCCAACAA<br>AAAGGGCAGC<br>GGAGATGACC<br>ATCCAGCGA<br>AACTACAAGA<br>CACCAGCAAG<br>TCTCATGCTC<br>AGCCTCTCCC |
| 31         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-CH23-N407 | MKAVVLAVAL<br>TCVVVDVSHE<br>HQDWLNGKEY<br>KNQVSLTCLV<br>LTVDKSRWQQ   | VFLTGSQARH<br>DPEVKFNWYV<br>KCKVSNKALP<br>KGFYPSDIAV<br>GNVFSCSVMH  | HHHHHGGGPS<br>DGVEVHNAKT<br>APIEKTISKA<br>EWESNGQPEN<br>EALHNHYTQK   | VFLFPPKPKD<br>KPREEQYNST<br>KGQPREPQVY<br>NYKTPPVLD<br>SLSLSPGK  | TLMISRTPEV<br>YRVVSVLTVL<br>TLPPSREEMT<br>SDGSFFLNST   |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES                                       |  |
|------------|--|--|
| 32         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-N407          | <p>ATGAAAGCTG TGGTGCTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br/> GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT<br/> TCCCCCAA AAA ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC<br/> ACATGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA<br/> CTGGTACGTG GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG<br/> AGGAGCAGTA CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG<br/> CACCAGGACT GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br/> AGCCCTCCCA GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC<br/> CCCGAGAACC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC<br/> AAGAACCAGG TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA<br/> CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA<br/> CCACGCCTCC CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CTTTCTTCCT <b>C AACAGCACC</b><br/> CTCACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGAACGTCT TCTCATGCTC<br/> CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC<br/> TGTCCCCGGG TAAATGA</p>        |
| 33         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-<br>CH23-N409 | <p><u>MKAVVLAVAL</u> <u>VFLTGSQARH</u> HHHHHGGGPPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br/> TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL<br/> HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT<br/> KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSN<br/> <b>LT</b>VDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK</p>   |
| 34         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-<br>N409      | <p>ATGAAAGCTG TGGTGCTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br/> GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT<br/> TCCCCCAA AAA ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC<br/> ACATGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA<br/> CTGGTACGTG GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG<br/> AGGAGCAGTA CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG<br/> CACCAGGACT GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br/> AGCCCTCCCA GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC<br/> CCCGAGAACC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC<br/> AAGAACCAGG TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA<br/> CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA<br/> CCACGCCTCC CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CTTTCTTCCT CTATAGCA<b>AA</b>C<br/> CTC<b>ACC</b>GTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGAACGTCT TCTCATGCTC<br/> CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC<br/> TGTCCCCGGG TAAATGA</p> |
| 35         | variantes CH23:<br>Proteína IgG4-<br>CH23-N347 | <p><u>MKAVVLAVAL</u> <u>VFLTGSQARH</u> HHHHHGGGPPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br/> TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL<br/> HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSI EKTISKA KGQPREPN<b>VT</b> TLPPSQEEMT<br/> KNQVSLTCLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR<br/> <b>LT</b>VDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGK</p>   |
| 36         | variantes CH23:<br>ADN                         | <p>ATGAAAGCTG TGGTGCTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br/> GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCATCA GTCTTCCTGT</p>  |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES                                       |  |
|------------|--|--|
|            | IgG4-CH23-N347                                 | TCCCCC AAA ACCCAAGGAC ACTTCATGA TCTCCGGAC CCCTGAGGTC<br>ACGTGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCAGGAA GACCCCGAGG TCCAGTTCAA<br>CTGGTACGTG GATGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG<br>AGGAGCAGTT CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCTT CACCGTCTTG<br>CACCAGGACT GGCTGAACGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br>AGGCCTCCCG TCCTCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGTCAGC<br>CCCGAGAGCC <b>AAACGTGACC</b> ACCCTGCCCC CATCCCAGGA GGAGATGACC<br>AAGAACCAGG TCAGCCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ACCCCAGCGA<br>CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA<br>CCACGCCTCC CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCTT CTACAGCAGG<br>CTAACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGGAG GGGAAATGTCT TCTCATGCTC<br>CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACACAGAAG AGCCTCTCCC<br>TGTCTCTGGG TAAATGA   |
| 37         | variantes CH23:<br>Proteína IgG4-<br>CH23-N364 | <u>MKAVVLAVAL</u> <u>VFLTGSQARH</u> HHHHHGGGPPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br>TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL<br>HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIIEKTISKA KGQPREPQVY TLPSPQEEMT<br>KNQV <b>NL</b> TLTV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSR<br>LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSLGG  |
| 38         | variantes CH23:<br>ADN IgG4-CH23-<br>N364      | ATGAAAGCTG TGGTGTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br>GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCATCA GTCTTCCTGT<br>TCCCCC AAA ACCCAAGGAC ACTTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC<br>ACGTGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCAGGAA GACCCCGAGG TCCAGTTCAA<br>CTGGTACGTG GATGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG<br>AGGAGCAGTT CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCTT CACCGTCTTG<br>CACCAGGACT GGCTGAACGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br>AGGCCTCCCG TCCTCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGTCAGC<br>CCCGAGAGCC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCAGGA GGAGATGACC<br>AAGAACCAGG <b>TCAACCTGAC</b> CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ACCCCAGCGA<br>CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA<br>CCACGCCTCC CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCTT CTACAGCAGG<br>CTAACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGGAG GGGAAATGTCT TCTCATGCTC<br>CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACACAGAAG AGCCTCTCCC<br>TGTCTCTGGG TAAATGA |
| 39         | variantes CH23:<br>Proteína IgG4-<br>CH23-N366 | <u>MKAVVLAVAL</u> <u>VFLTGSQARH</u> HHHHHGGGPPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br>TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL<br>HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIIEKTISKA KGQPREPQVY TLPSPQEEMT<br>KNQV <b>SLN</b> CTV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFLYSR<br>LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTOK SLSLSLGG  |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES                                       |  |
|------------|--|--|
| 40         | variantes CH23:<br>ADN IgG4-CH23-<br>N366      | <p>ATGAAAGCTG TGGTGCTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br/> GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCATCA GTCTTCCTGT<br/> TCCCCC AAA ACCCAAGGAC ACTTCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC<br/> ACGTGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCAGGAA GACCCCGAGG TCCAGTTCAA<br/> CTGGTACGTG GATGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG<br/> AGGAGCAGTT CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG<br/> CACCAGGACT GGCTGAACGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br/> AGGCCTCCG TCCTCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGTCAGC<br/> CCCGAGAGCC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCAGGA GGAGATGACC<br/> AAGAACCAGG TCAGCCTGAA CTGCACCGTC AAAGGCTTCT ACCCCAGCGA<br/> CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA<br/> CCACGCCTCC CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CTTTCTTCT CTACAGCAGG<br/> CTAACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGGAG GGAATGTCT TCTCATGCTC<br/> CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACACAGAAG AGCCTCTCCC<br/> TGTCTCTGGG TAAATGA</p>   |
| 41         | variantes CH23:<br>Proteína IgG4-<br>CH23-N368 | <p>MKAVVLAVAL VFLTGSQARH HHHHHGGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br/> TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL<br/> HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT<br/> KNQVSLTCNV TGFYPDIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSR<br/> LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTOK SLSLSLGK</p>   |
| 42         | variantes CH23:<br>ADN IgG4-CH23-<br>N368      | <p>ATGAAAGCTG TGGTGCTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br/> GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCATCA GTCTTCCTGT<br/> TCCCCC AAA ACCCAAGGAC ACTTCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC<br/> ACGTGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCAGGAA GACCCCGAGG TCCAGTTCAA</p> <p>CTGGTACGTG GATGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG<br/> AGGAGCAGTT CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG<br/> CACCAGGACT GGCTGAACGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br/> AGGCCTCCG TCCTCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGTCAGC<br/> CCCGAGAGCC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCAGGA GGAGATGACC<br/> AAGAACCAGG TCAGCCTGAC CTGCAACGTC ACCGGCTTCT ACCCCAGCGA<br/> CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA<br/> CCACGCCTCC CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CTTTCTTCT CTACAGCAGG<br/> CTAACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGGAG GGAATGTCT TCTCATGCTC<br/> CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACACAGAAG AGCCTCTCCC<br/> TGTCTCTGGG TAAATGA</p> |
| 43         | variantes CH23:<br>Proteína IgG4-<br>CH23-N390 | <p>MKAVVLAVAL VFLTGSQARH HHHHHGGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br/> TCVVVDVSQE DPEVQFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQFNST YRVVSVLTVL<br/> HQDWLNGKEY KCKVSNKGLP SSIIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSQEEMT<br/> KNQVSLTCLV KGFYPDIAV EWESNGQPEN NYTTTTPVLD SDGSFFLYSR<br/> LTVDKSRWQE GNVFSCSVMH EALHNHYTOK SLSLSLGK</p>   |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES                                       |   |   |  |   |   |
|------------|--|---|---|--|---|---|
| 44         | variantes CH23:<br>ADN IgG4-CH23-<br>N390      | ATGAAAGCTG<br>GGCTCGGCAT<br>TCCCCCAAA<br>ACGTGCGTGG<br>CTGGTACGTG<br>AGGAGCAGTT<br>CACCAGGACT<br>AGGCCTCCCG<br>CCCGAGAGCC<br>AAGAACCAGG<br>CATCGCCGTG<br>CCACGCCTCC<br>CTAACCGTGG<br>CGTGATGCAT<br>TGTCTCTGGG | TGGTGCTGGC<br>CATCATCACC<br>ACCCAAGGAC<br>TGGTGGACGT<br>GATGGCGTGG<br>CAACAGCACG<br>GGCTGAACGG<br>TCCTCCATCG<br>ACAGGTGTAC<br>TCAGCCTGAC<br>GAGTGGGAGA<br>CGTGCTGGAC<br>ACAAGAGCAG<br>GAGGCTCTGC<br>TAAATGA | CGTGGCTCTG<br>ATCACGGCGG<br>ACTTCATGA<br>GAGCCAGGAA<br>AGGTGCATAA<br>TACCGTGTGG<br>CAAGGAGTAC<br>AGAAAACCAT<br>ACCC TGCCCC<br>CTGCCTGGTC<br>GCAATGGGCA<br>TCCGACGGCT<br>GTGGCAGGAG<br>ACAACCACTA | GTCTTCCTGA<br>GGGACCATCA<br>TCTCCCGGAC<br>GACCCCGAGG<br>TGCCAAGACA<br>TCAGCGTCCT<br>AAGTGCAAGG<br>CTCCAAAGCC<br>CATCCAGGA<br>AAAGGCTTCT<br>GCCGGAGAAC<br>CCTTCTTCCT<br>GGGAATGTCT<br>CACACAGAAG | CAGGGAGCCA<br>GTCTTCCTGT<br>CCCTGAGGTC<br>TCCAGTTCAA<br>AAGCCGCGGG<br>CACC GTCTCTG<br>TCTCCAACAA<br>AAAGGTCAGC<br>GGAGATGACC<br>ACCC CAGCGA<br>AACTACACCA<br>CTACAGCAGG<br>TCTCATGCTC<br>AGCCTCTCCC |
| 45         | variantes CH23:<br>Proteína IgG4-<br>CH23-N401 | MKAVVLAVAL<br>TCVVVDVSQE<br>HQDWLNGKEY<br>KNQVSLTCLV<br>LTVDKSRWQE  | VFLTGSQARH<br>DPEVQFNWYV<br>KCKVSNKGLP<br>KGFYPSDIAV<br>GNVFSCSVMH  | HHHHHGGGPPS<br>DGVEVHNAKT<br>SSIEKTISKA<br>EWESNGQPEN<br>EALHNHYTQK  | VFLFPPKPKD<br>KPREEQFNST<br>KGQPREPQVY<br>NYKTTPPVLD<br>SLSLSLGK  | TLMISRTPEV<br>YRVVSVLTVL<br>TLPPSQEEMT<br>SNGTFFLYSR  |
| 46         | variantes CH23:<br>ADN IgG4-CH23-<br>N401      | ATGAAAGCTG<br>GGCTCGGCAT<br>TCCCCCAAA<br>ACGTGCGTGG<br>CTGGTACGTG<br>AGGAGCAGTT<br>CACCAGGACT<br>AGGCCTCCCG<br>CCCGAGAGCC<br>AAGAACCAGG<br>CATCGCCGTG<br>CCACGCCTCC<br>CTAACCGTGG<br>CGTGATGCAT<br>TGTCTCTGGG | TGGTGCTGGC<br>CATCATCACC<br>ACCCAAGGAC<br>TGGTGGACGT<br>GATGGCGTGG<br>CAACAGCACG<br>GGCTGAACGG<br>TCCTCCATCG<br>ACAGGTGTAC<br>TCAGCCTGAC<br>GAGTGGGAGA<br>CGTGCTGGAC<br>ACAAGAGCAG<br>GAGGCTCTGC<br>TAAATGA | CGTGGCTCTG<br>ATCACGGCGG<br>ACTTCATGA<br>GAGCCAGGAA<br>AGGTGCATAA<br>TACCGTGTGG<br>CAAGGAGTAC<br>AGAAAACCAT<br>ACCC TGCCCC<br>CTGCCTGGTC<br>GCAATGGGCA<br>TCCAACGGCA<br>GTGGCAGGAG<br>ACAACCACTA | GTCTTCCTGA<br>GGGACCATCA<br>TCTCCCGGAC<br>GACCCCGAGG<br>TGCCAAGACA<br>TCAGCGTCCT<br>AAGTGCAAGG<br>CTCCAAAGCC<br>CATCCAGGA<br>AAAGGCTTCT<br>GCCGGAGAAC<br>CCTTCTTCCT<br>GGGAATGTCT<br>CACACAGAAG | CAGGGAGCCA<br>GTCTTCCTGT<br>CCCTGAGGTC<br>TCCAGTTCAA<br>AAGCCGCGGG<br>CACC GTCTCTG<br>TCTCCAACAA<br>AAAGGTCAGC<br>GGAGATGACC<br>ACCC CAGCGA<br>AACTACAAGA<br>CTACAGCAGG<br>TCTCATGCTC<br>AGCCTCTCCC |
| 47         | variantes CH23:<br>Proteína IgG4-<br>CH23-N405 | MKAVVLAVAL<br>TCVVVDVSQE<br>HQDWLNGKEY<br>KNQVSLTCLV<br>LTVDKSRWQE  | VFLTGSQARH<br>DPEVQFNWYV<br>KCKVSNKGLP<br>KGFYPSDIAV<br>GNVFSCSVMH  | HHHHHGGGPPS<br>DGVEVHNAKT<br>SSIEKTISKA<br>EWESNGQPEN<br>EALHNHYTQK  | VFLFPPKPKD<br>KPREEQFNST<br>KGQPREPQVY<br>NYKTTPPVLD<br>SLSLSLGK  | TLMISRTPEV<br>YRVVSVLTVL<br>TLPPSQEEMT<br>SDGSFNLT SR   |
| 48         | variantes CH23:<br>ADN IgG4-CH23-<br>N405      | ATGAAAGCTG<br>GGCTCGGCAT<br>TCCCCCAAA<br>ACGTGCGTGG<br>CTGGTACGTG<br>AGGAGCAGTT   | TGGTGCTGGC<br>CATCATCACC<br>ACCCAAGGAC<br>TGGTGGACGT<br>GATGGCGTGG<br>CAACAGCACG  | CGTGGCTCTG<br>ATCACGGCGG<br>ACTTCATGA<br>GAGCCAGGAA<br>AGGTGCATAA<br>TACCGTGTGG  | GTCTTCCTGA<br>GGGACCATCA<br>TCTCCCGGAC<br>GACCCCGAGG<br>TGCCAAGACA<br>TCAGCGTCCT  | CAGGGAGCCA<br>GTCTTCCTGT<br>CCCTGAGGTC<br>TCCAGTTCAA<br>AAGCCGCGGG<br>CACC GTCTCTG  |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES                                       |  |   |  |  |   |
|------------|--|--|---|--|--|---|
|            |  | CACCAGGACT<br>AGGCCTCCCG<br>CCCGAGAGCC<br>AAGAACCAGG<br>CATCGCCGTG<br>CCACGCCCTCC<br>CTAACCGTGG<br>CGTGATGCAT<br>TGTCTCTGGG  | GGCTGAACGG<br>TCCTCCATCG<br>ACAGGTGTAC<br>TCAGCCTGAC<br>GAGTGGGAGA<br>CGTGCTGGAC<br>ACAAGAGCAG<br>GAGGCTCTGC<br>TAAATGA   | CAAGGAGTAC<br>AGAAAACCAT<br>ACCCTGCCCC<br>CTGCCTGGTC<br>GCAATGGGCA<br>TCCGACGGCT<br>GTGGCAGGAG<br>ACAACCACTA   | AAGTGCAAGG<br>CTCCAAAGCC<br>CATCCCAGGA<br>AAAGGCTTCT<br>GCCGGAGAAC<br>CCTTCA <b>AACT</b><br>GGGAATGTCT<br>CACACAGAAG   | TCTCCAACAA<br>AAAGGTCAGC<br>GGAGATGACC<br>ACCCAGCGA<br>AACTACAAGA<br><b>CACCAGCAGG</b><br>TCTCATGCTC<br>AGCCTCTCCC  |
| 49         | variantes CH23:<br>Proteína IgG4-<br>CH23-N407 | MKAVVLAVAL<br>TCVVVDVSQE<br>HQDWLNGKEY<br>KNQVSLTCLV<br>LTVDKSRWQE   | VFLTGSQARH<br>DPEVQFNWYV<br>KCKVSNKGLP<br>KGFYPSDIAV<br>GNVFSCSVMH  | HHHHHGGGPS<br>DGVEVHNAKT<br>SSIEKTISKA<br>EWESNGQPEN<br>EALHNHYTQK   | VFLFPPKPKD<br>KPREEQFNST<br>KGQPREPQVY<br>NYKTTPPVLD<br>SLSLSLKG   | TLMISRTPEV<br>YRVVSVLTVL<br>TLPPSQEEMT<br>SDGSFFLN <b>ST</b>  |
| 50         | variantes CH23:<br>ADN IgG4-CH23-<br>N407      | ATGAAAGCTG<br>GGCTCGGCAT<br>TCCCCCAA<br>ACGTGCGTGG<br>CTGGTACGTG<br>AGGAGCAGTT<br>CACCAGGACT<br>AGGCCTCCCG<br>CCCGAGAGCC<br>AAGAACCAGG<br>CATCGCCGTG<br>CCACGCCCTCC<br>CTAACCGTGG<br>CGTGATGCAT<br>TGTCTCTGGG          | TGGTGCTGGC<br>CATCATCACC<br>ACCCAAGGAC<br>TGGTGGACGT<br>GATGGCGTGG<br>CAACAGCAGC<br>GGCTGAACGG<br>TCCTCCATCG<br>ACAGGTGTAC<br>TCAGCCTGAC<br>GAGTGGGAGA<br>CGTGCTGGAC<br>ACAAGAGCAG<br>GAGGCTCTGC<br>TAAATGA | CGTGGCTCTG<br>ATCACGGCGG<br>ACTTTCATGA<br>GAGCCAGGAA<br>AGGTGCATAA<br>TACCGTGTGG<br>CAAGGAGTAC<br>AGAAAACCAT<br>ACCCTGCCCC<br>CTGCCTGGTC<br>GCAATGGGCA<br>TCCGACGGCT<br>GTGGCAGGAG<br>ACAACCACTA | GTCTTCCTGA<br>GGGACCATCA<br>TCTCCCGGAC<br>GACCCCGAGG<br>TGCCAAGACA<br>TCAGCGTCTCT<br>AAGTGCAAGG<br>CTCCAAAGCC<br>CATCCCAGGA<br>AAAGGCTTCT<br>GCCGGAGAAC<br>CCTTCTTCTCT<br>GGGAATGTCT<br>CACACAGAAG | CAGGGAGCCA<br>GTCTTCCTGT<br>CCCTGAGGTC<br>TCCAGTTCAA<br>AAGCCGCGGG<br>CACCGTCTCTG<br>TCTCCAACAA<br>AAAGGTCAGC<br>GGAGATGACC<br>ACCCAGCGA<br>AACTACAAGA<br><b>CACAGCACC</b><br>TCTCATGCTC<br>AGCCTCTCCC    |
| 51         | variantes CH23:<br>Proteína IgG4-<br>CH23-N409 | MKAVVLAVAL<br>TCVVVDVSQE<br>HQDWLNGKEY<br>KNQVSLTCLV<br>LTVDKSRWQE   | VFLTGSQARH<br>DPEVQFNWYV<br>KCKVSNKGLP<br>KGFYPSDIAV<br>GNVFSCSVMH  | HHHHHGGGPS<br>DGVEVHNAKT<br>SSIEKTISKA<br>EWESNGQPEN<br>EALHNHYTOK   | VFLFPPKPKD<br>KPREEQFNST<br>KGQPREPQVY<br>NYKTTPPVLD<br>SLSLSLKG   | TLMISRTPEV<br>YRVVSVLTVL<br>TLPPSQEEMT<br>SDGSFFLY <b>SN</b>  |
| 52         | variantes CH23:<br>ADN IgG4-CH23-<br>N409      | ATGAAAGCTG<br>GGCTCGGCAT<br>TCCCCCAA<br>ACGTGCGTGG<br>CTGGTACGTG<br>AGGAGCAGTT<br>CACCAGGACT<br>AGGCCTCCCG<br>CCCGAGAGCC<br>AAGAACCAGG<br>CATCGCCGTG<br>CCACGCCCTCC<br>CTA <b>ACC</b> GTGG<br>CGTGATGCAT<br>TGTCTCTGGG | TGGTGCTGGC<br>CATCATCACC<br>ACCCAAGGAC<br>TGGTGGACGT<br>GATGGCGTGG<br>CAACAGCAGC<br>GGCTGAACGG<br>TCCTCCATCG<br>ACAGGTGTAC<br>TCAGCCTGAC<br>GAGTGGGAGA<br>CGTGCTGGAC<br>ACAAGAGCAG<br>GAGGCTCTGC<br>TAAATGA | CGTGGCTCTG<br>ATCACGGCGG<br>ACTTTCATGA<br>GAGCCAGGAA<br>AGGTGCATAA<br>TACCGTGTGG<br>CAAGGAGTAC<br>AGAAAACCAT<br>ACCCTGCCCC<br>CTGCCTGGTC<br>GCAATGGGCA<br>TCCGACGGCT<br>GTGGCAGGAG<br>ACAACCACTA | GTCTTCCTGA<br>GGGACCATCA<br>TCTCCCGGAC<br>GACCCCGAGG<br>TGCCAAGACA<br>TCAGCGTCTCT<br>AAGTGCAAGG<br>CTCCAAAGCC<br>CATCCCAGGA<br>AAAGGCTTCT<br>GCCGGAGAAC<br>CCTTCTTCTCT<br>GGGAATGTCT<br>CACACAGAAG | CAGGGAGCCA<br>GTCTTCCTGT<br>CCCTGAGGTC<br>TCCAGTTCAA<br>AAGCCGCGGG<br>CACCGTCTCTG<br>TCTCCAACAA<br>AAAGGTCAGC<br>GGAGATGACC<br>ACCCAGCGA<br>AACTACAAGA<br>CTACAGC <b>AAAC</b><br>TCTCATGCTC<br>AGCCTCTCCC |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES  |  |
|------------|---|--|
| 53         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-<br>CH23-N364/N368 | <p>MKAVVLAVAL VFLTGSQARH HHHHHGGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br/> TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL<br/> HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT<br/> KNQVNLTCNV TGFYPSTIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLYSK<br/> LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK</p>   |
| 54         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-<br>N364/N368      | <p>ATGAAAGCTG TGGTGCTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br/> GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT<br/> TCCCCC AAA ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC<br/> ACATGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA<br/> CTGGTACGTG GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG<br/> AGGAGCAGTA CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCTCTG<br/> CACCAGGACT GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br/> AGCCCTCCCA GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCAAAGCC AAAGGGCAGC</p> <p>CCCGAGAACC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC<br/> AAGAACCAGG TCAACCTGAC CTGCAACGTC ACCGGCTTCT ATCCAGCGGA<br/> CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA<br/> CCACGCCTCC CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CTTTCTTCT CTATAGCAAG<br/> CTCACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGAACGTCT TCTCATGCTC<br/> CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC<br/> TGTCCCCGGG TAAATGA</p> |
| 55         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-<br>CH23-N364/N405 | <p>MKAVVLAVAL VFLTGSQARH HHHHHGGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br/> TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL<br/> HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT<br/> KNQVNLTCNV KGFYPSTIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFNLTSTK<br/> LTVDKSRWOO GNVFSCSVMH EALHNHYTOK SLSLSPGK</p>  |
| 56         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-<br>N364/N405      | <p>ATGAAAGCTG TGGTGCTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br/> GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT<br/> TCCCCC AAA ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC<br/> ACATGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA<br/> CTGGTACGTG GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG<br/> AGGAGCAGTA CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCTCTG<br/> CACCAGGACT GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br/> AGCCCTCCCA GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCAAAGCC AAAGGGCAGC<br/> CCCGAGAACC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC<br/> AAGAACCAGG TCAACCTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCAGCGGA<br/> CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA<br/> CCACGCCTCC CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CTTTCAACCT CACCAGCAAG<br/> CTCACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGAACGTCT TCTCATGCTC<br/> CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC<br/> TGTCCCCGGG TAAATGA</p>  |
| 57         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-<br>CH23-N364/N407 | <p>MKAVVLAVAL VFLTGSQARH HHHHHGGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br/> TCVVVDVSHE DPEVKFNWYV DGVEVHNAKT KPREEQYNST YRVVSVLTVL<br/> HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT<br/> KNQVNLTCNV KGFYPSTIAV EWESNGQPEN NYKTTTPVLD SDGSFFLNST<br/> LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK</p>   |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES   |  |  |  |  |   |
|------------|--|--|--|--|--|---|
| 58         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-<br>N364/N407               | ATGAAAGCTG<br>GGCTCGGCAT<br>TCCCCC AAA<br>ACATGCGTGG<br>CTGGTACGTG<br>AGGAGCAGTA<br>CACCAGGACT<br>AGCCCTCCCA<br>CCCGAGAACC<br>AAGAACCAGG<br>CATCGCCGTG<br>CCACGCCTCC<br>CTCACCGTGG<br>CGTGATGCAT<br>TGTC CCGGG | TGGTGCTGGC<br>CATCATCACC<br>ACCCAAGGAC<br>TGGTGACGT<br>GACGGCGTGG<br>CAACAGCACG<br>GGCTGAATGG<br>GCCCCATCG<br>ACAGGTGTAC<br>TCAACTGAC<br>GAGTGGGAGA<br>CGTGCTGGAC<br>ACAAGAGCAG<br>GAGGCTCTGC<br>TAAATGA | CGTGGCTCTG<br>ATCACGGCGG<br>ACCCTCATGA<br>GAGCCACGAA<br>AGGTGCATAA<br>TACCGTGTGG<br>CAAGGAGTAC<br>AGAAAACCAT<br>ACCCTGCCCC<br>GCAATGGGCA<br>TCCGACGGCT<br>GTGGCAGCAG<br>ACAACCACTA<br>ACAACCACTA | GTCTTCCTGA<br>GGGACCGTCA<br>TCTCCCGGAC<br>GACCC TGAGG<br>TGCCAAGACA<br>TCAGCGTCTCT<br>AAGTGCAAGG<br>CTCCAAAGCC<br>CATCCCGGGA<br>AAAGGCTTCT<br>GCCGAGA AAC<br>CCTTCTTCTCT<br>GGGAACGTCT<br>CACGCAGAAG | CAGGGAGCCA<br>GTCTTCCTCT<br>CCCTGAGGTC<br>TCAAGTTCAA<br>AAGCCGCGGG<br>CACC GTCTCTG<br>TCTCCAACAA<br>AAAGGGCAGC<br>GGAGATGACC<br>ATCCAGCGA<br>AACTACAAGA<br>CAACAGCACC<br>TCTCATGCTC<br>AGCCTCTCCC |
| 59         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-<br>CH23-<br>N258/N364/N407 | MKAVVLAVAL<br>TCVVVDVSHE<br>HQDWLNGKEY<br>KNQVNL TCLV<br>LTVDKSRWQQ  | VFLTGSQARH<br>DPEVKFNWYV<br>KCKVSNKALP<br>KGFYPSDIAV<br>GNVFSCSVMH   | HHHHHGGGPS<br>DGVEVHNAKT<br>APIEKTISKA<br>EWESNGQPEN<br>EALHNHYTQK   | VFLFPPKPKD<br>KPREEQYNST<br>KGQPREPQVY<br>NYKTTPPVLD<br>SLSLSPGK   | TLMISRTPNV<br>YRVVSVLTVL<br>TLPPSREEMT<br>SDGSFFLNST  |
| 60         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-<br>N258/N364/N407          | ATGAAAGCTG<br>GGCTCGGCAT<br>TCCCCC AAA<br>ACATGCGTGG<br>CTGGTACGTG<br>AGGAGCAGTA<br>CACCAGGACT<br>AGCCCTCCCA<br>CCCGAGAACC<br>AAGAACCAGG<br>CATCGCCGTG<br>CCACGCCTCC<br>CTCACCGTGG<br>CGTGATGCAT<br>TGTC CCGGG | TGGTGCTGGC<br>CATCATCACC<br>ACCCAAGGAC<br>TGGTGACGT<br>GACGGCGTGG<br>CAACAGCACG<br>GGCTGAATGG<br>GCCCCATCG<br>ACAGGTGTAC<br>TCAACTGAC<br>GAGTGGGAGA<br>CGTGCTGGAC<br>ACAAGAGCAG<br>GAGGCTCTGC<br>TAAATGA | CGTGGCTCTG<br>ATCACGGCGG<br>ACCCTCATGA<br>GAGCCACGAA<br>AGGTGCATAA<br>TACCGTGTGG<br>CAAGGAGTAC<br>AGAAAACCAT<br>ACCCTGCCCC<br>GCAATGGGCA<br>TCCGACGGCT<br>GTGGCAGCAG<br>ACAACCACTA<br>ACAACCACTA | GTCTTCCTGA<br>GGGACCGTCA<br>TCTCCCGGAC<br>GACCC TGAGG<br>TGCCAAGACA<br>TCAGCGTCTCT<br>AAGTGCAAGG<br>CTCCAAAGCC<br>CATCCCGGGA<br>AAAGGCTTCT<br>GCCGAGA AAC<br>CCTTCTTCTCT<br>GGGAACGTCT<br>CACGCAGAAG | CAGGGAGCCA<br>GTCTTCCTCT<br>CCCTAACGTC<br>TCAAGTTCAA<br>AAGCCGCGGG<br>CACC GTCTCTG<br>TCTCCAACAA<br>AAAGGGCAGC<br>GGAGATGACC<br>ATCCAGCGA<br>AACTACAAGA<br>CAACAGCACC<br>TCTCATGCTC<br>AGCCTCTCCC |
| 61         | variantes CH23:<br>IgG1-CH23-<br>N260/N364/N407              | MKAVVLAVAL<br>NCTVVVDVSHE<br>HQDWLNGKEY<br>KNQVNL TCLV<br>LTVDKSRWQQ   | VFLTGSQARH<br>DPEVKFNWYV<br>KCKVSNKALP<br>KGFYPSDIAV<br>GNVFSCSVMH   | HHHHHGGGPS<br>DGVEVHNAKT<br>APIEKTISKA<br>EWESNGQPEN<br>EALHNHYTQK   | VFLFPPKPKD<br>KPREEQYNST<br>KGQPREPQVY<br>NYKTTPPVLD<br>SLSLSPGK   | TLMISRTPNV<br>YRVVSVLTVL<br>TLPPSREEMT<br>SDGSFFLNST  |



(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES   |   |
|------------|--|---|
| 62         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-<br>N260/N364/N407          | <p>ATGAAAGCTG TGGTGCTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br/> GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT<br/> TCCCCC AAA ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC<br/> <b>A</b>ACTGC<b>ACC</b>G TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA<br/> CTGGTACGTG GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG<br/> AGGAGCAGTA CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG<br/> CACCAGGACT GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br/> AGCCCTCCCA GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC<br/> CCCGAGAACC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC<br/> AAGAACCAGG <b>TCA</b>ACTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA<br/> CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA<br/> CCACGCCTCC CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCTT <b>CAACAGCACC</b><br/> CTCACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC<br/> CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC<br/> TGTCGCCGGG TAAATGA</p> |
| 63         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-<br>CH23-<br>N286/N364/N407 | <p>MKAVVLAVAL <u>V</u>FLTGSQARH HHHHHGGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br/> <u>T</u>CVVVDVSHE <u>D</u>PEVKFNWYV DGVEVHNATT KPREEQYNST YRVVSVLTVL<br/> HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT<br/> KNQV<b>N</b>L<b>T</b>CLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFL<b>N</b>ST<br/> LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK</p>   |
| 64         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-<br>N286/N364/N407          | <p>ATGAAAGCTG TGGTGCTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br/> GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT<br/> TCCCCC AAA ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC<br/> ACATGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA<br/> CTGGTACGTG GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCC<b>ACC</b>ACA AAGCCGCGGG<br/> AGGAGCAGTA CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGCGTCCT CACCGTCCTG<br/> CACCAGGACT GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br/> AGCCCTCCCA GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC<br/> CCCGAGAACC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC<br/> AAGAACCAGG <b>TCA</b>ACTGAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA<br/> CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA<br/> CCACGCCTCC CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCTT <b>CAACAGCACC</b><br/> CTCACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC<br/> CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC<br/> TGTCGCCGGG TAAATGA</p>        |
| 65         | variantes CH23:<br>Proteína IgG1-<br>CH23-<br>N305/N364/N407 | <p>MKAVVLAVAL <u>V</u>FLTGSQARH HHHHHGGGPS VFLFPPKPKD TLMISRTPEV<br/> <u>T</u>CVVVDVSHE <u>D</u>PEVKFNWYV DGVEVHN<b>A</b>KT KPREEQYNST YRVV<b>S</b>N<b>L</b>TVL<br/> HQDWLNGKEY KCKVSNKALP APIEKTISKA KGQPREPQVY TLPPSREEMT<br/> KNQV<b>N</b>L<b>T</b>CLV KGFYPSDIAV EWESNGQPEN NYKTPPVLD SDGSFFL<b>N</b>ST<br/> LTVDKSRWQQ GNVFSCSVMH EALHNHYTQK SLSLSPGK</p>  |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES  |  |
|------------|---|--|
| 66         | variantes CH23:<br>ADN IgG1-CH23-<br>N305/N364/N407 | <p>ATGAAAGCTG TGGTGCTGGC CGTGGCTCTG GTCTTCCTGA CAGGGAGCCA<br/> GGCTCGGCAT CATCATCACC ATCACGGCGG GGGACCGTCA GTCTTCCTCT<br/> TCCCCCAAAA ACCCAAGGAC ACCCTCATGA TCTCCCGGAC CCCTGAGGTC<br/> ACATGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCACGAA GACCCTGAGG TCAAGTTCAA<br/> CTGGTACGTG GACGGCGTGG AGGTGCATAA TGCCAAGACA AAGCCGCGGG<br/> AGGAGCAGTA CAACAGCACG TACCGTGTGG TCAGC<b>AACCT</b> CACCGTCTCTG<br/> CACCAGGACT GGCTGAATGG CAAGGAGTAC AAGTGCAAGG TCTCCAACAA<br/> AGCCCTCCCA GCCCCATCG AGAAAACCAT CTCCAAAGCC AAAGGGCAGC<br/> CCCGAGAACC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC CATCCCGGGA GGAGATGACC<br/> AAGAACCAGG TC<b>AACCT</b>GAC CTGCCTGGTC AAAGGCTTCT ATCCAGCGA<br/> CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA GCCGGAGAAC AACTACAAGA<br/> CCACGCCTCC CGTGCTGGAC TCCGACGGCT CCTTCTTCTT <b>C AACAGCACC</b></p> |
|            |   | <p>CTCACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG GGGAACGTCT TCTCATGCTC<br/> CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA CACGCAGAAG AGCCTCTCCC<br/> TGTCCTCCGGG TAAATGA</p>   |
| 67         | Variantes Fab-<br>CH23: Proteína<br>KLH-gamma       | <p>MGWSCIIILFL VATATGAHSE VQLVESGGGL VQPGGSLRLS CAASGFTFSN<br/> YDMYWVRQTT GKGLEWVSAI GTAGDTYYPG SVKGRFTISR ENAKNSLYLQ<br/> MNSLRAGDTA VYYCAREKSS TSAFDYWGG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP<br/> CSRSTSESTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY<br/> SLSSVVTVPS SNFGTQTYTC NVDHKPSNTK VDKTVERKCC VECPPCPAPP<br/> VAGPSVFLFP PKPKDTLMIS RTPEVTCVVV DVSHEDPEVQ FNWYVDGVEV<br/> HNAKTKPREE QFNSTFRVVS VLTVVHQDWL NGKEYKCKVS NKGLPAPIEK<br/> TISKTKGQPR EPQVYTLPPS REEMTKNQVS LTCLVKGFYP SDIAVEWESN<br/> GQPENNYKTT PPMLDSGDSF FLYSKLTVDK SRWQQGNVFS CSVMHEALHN<br/> HYTQKSLSLG PGK</p>  |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES                               |  |
|------------|--|--|
| 68         | Variantes Fab-CH23: ADN KLH-gamma      | <p>ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGCGC<br/>                     GCACTCCGAG GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGGCTTG GTACAGCCTG<br/>                     GGGGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCCT CTGGATTAC CTTAGTAAC<br/>                     TACGACATGT ACTGGGTCCG CCAAACACTACA GGAAAAGGTC TGGAGTGGGT<br/>                     CTCAGCTATT GGTACTGCTG GTGACACATA CTATCCAGGC TCCGTGAAGG<br/>                     GCCGATTCAC CATCTCCAGA GAAAATGCCA AGAACTCCTT GTATCTTCAA<br/>                     ATGAACAGCC TGAGAGCCGG GGACACGGCT GTGTATTACT GTGCAAGAGA<br/>                     GAAGTCTAGC ACCTCGGCCT TTGACTACTG GGGCCAGGGA ACCCTGGTCA<br/>                     CAGTCTCCTC AGCGTCGACC AAGGGCCCAT CGGTCTTCCC CCTGGCACCC<br/>                     TCCTCCAAGA GCACCTCTGG GGGCACAGCG GCCCTGGGCT GCCTGGTCAA<br/>                     GGACTACTTC CCCGAACCGG TGACGGTGTC GTGGAACCTCA GGCGCCCTGA<br/>                     CCAGCGGCGT GCACACCTTC CCGGCTGTCC TACAGTCTTC AGGACTCTAC<br/>                     TCCCTCAGCA GCGTGGTGAC CGTGCCCTCC AGCAGCTTGG GCACCCAGAC<br/>                     CTACATCTGC AACGTGAATC ACAAGCCCAG CAACACCAAG GTGGACAAGA<br/>                     AAGTTGAGCC CAAATCTTGT GACAAAACCTC ACACATGCCC ACCGTGCCCA<br/>                     GCACCTGAAC TCCTGGGGGG ACCGTCAGTC TTCCTCTTCC CCCCCAAAC<br/>                     CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACA TGCGTGGTGG<br/>                     TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCTGAGGTCA AGTTCAACTG GTACGTGGAC<br/>                     GCGGTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG CCGCGGGAGG AGCAGTACAA<br/>                     CAGCACGTAC CGTGTGGTCA GCGTCTCAC CGTCTGCAC CAGGACTGGC<br/>                     TGAATGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGC CCTCCCAGCC<br/>                     CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAGCCAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA<br/>                     GGTGTACACC CTGCCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAGGTCA<br/>                     GCCTGACCTG CCTGGTCAAA GGCTTCTATC CCAGCGACAT CGCGTGGAG<br/>                     TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA CGCTCCCGT<br/>                     GCTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCTCTA TAGCAAGCTC ACCGTGGACA<br/>                     AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG<br/>                     GCTCTGCACA ACCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CCCC GGGTAA<br/>                     ATGA</p> |
| 69         | Variantes Fab-CH23: Proteína KLH-kappa | <p>MGWSCIIILFL VATATGAHSD IQMTQSPSSL SVSVGDRVTI TCQAGQDIRN<br/>                     YLNWYQQKPG KAPKLLIYDA SNLETGVPSR FSGSGGTAF TFTLSSLQPE<br/>                     DIATYYCQYQY DNLTFGQGTK LEIKRTVAAP SVFIFPPSDE QLKSGTASVV<br/>                     CLLNNFYPRE AKVQWKVDNA LQSGNSQESV TEQDSKDSTY SLSSTLTLSK<br/>                     ADYEKHKVYA CEVTHQGLSS PVTKSFNRGE C</p>   |
| 70         | Variantes Fab-CH23: ADN KLH-kappa      | <p>ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGCGC<br/>                     GCACTCCGAC ATCCAGATGA CCCAGTCTCC ATCCTCCCTG TCTGTATCTG<br/>                     TGGGAGACAG AGTCACCATC ACTTGCCAGG CGGGTGAGGA CATTGCAAC<br/>                     TATTTAAATT GGTATCAGCA GAAACCAGGG AAAGCCCCTA AACTCCTGAT<br/>                     CTACGATGCA TCCAATTTGG AAACAGGGGT CCCATCAAGG TTCAGTGGAA<br/>                     GTGGATCTGG GACAGCTTTT ACTTTCACCA TCAGCAGCCT GCAGCCTGAA<br/>                     GATATTGCAA CATATTACTG TCAACAGTAT GATAATCTCA CTTTTGGCCA<br/>                     GGGGACCAA CTGGAAATCA AACGTGAGTA GAATAACTCT AGAGGAATAG<br/>                     GGAAGCTAGG AAGAACTCA AAACATCAAG ATTTTAAATA CGCTTCTTGG<br/>                     TCTCCTTGCT ATAATTATCT GGGATAAGCA TGCTGTTTTT TGTCTGTCCC<br/>                     TAACATGCCC TGTGATTATC CGCAAACAAC ACACCCAAGG GCAGAACTTT<br/>                     GTTACTTAAA CACCATCCTG TTTGCTTCTT TCCTCAGGAA CTGTGGCTGC<br/>                     ACCATCTGTC TTCATCTTCC CGCCATCTGA TGAGCAGTTG AAATCTGGAA<br/>                     CTGCCCTGTG TGTGTGCTG CTGAATAACT TCTATCCCAG AGAGGCCAAA<br/>                     GTACAGTGGA AGGTGGATAA CGCCCTCCAA TCGGGTAACT CCCAGGAGAG</p>  |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES                              |   |
|------------|---------------------------------------|---|
|            |                                       | TGTCACAGAG CAGGACAGCA AGGACAGCAC CTACAGCCTC AGCAGCACCC<br>TGACGCTGAG CAAAGCAGAC TACGAGAAAC ACAAAGTCTA CGCCTGCGAA<br>GTCACCCATC AGGGCCTGAG CTCGCCCGTC ACAAAGAGCT TCAACAGGGG<br>AGAGTGTTAG  |
| 71         | Variantes Fab-CH23: Proteína Fab-CH23 | MGWSCIILFL VATATGAHSE VQLVESGGGL VQPGGSLRLS CAASGFTFSN<br>YDMYWVRQTT GKGLEWVSAI GTAGDYYYPG SVKGRFTISR ENAKNSLYLQ<br>MNSLRAGDTA VYYCAREKSS TSAFDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPPLAP<br>SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY<br>SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKHTHTGGGG<br>GGGGSGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD<br>GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA<br>PIEKTIISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVNLTCCLVK GFYPSDIAVE<br>WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLNSTL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE<br>ALHNHYTQKS LSLSPGK   |
| 72         | Variantes Fab-CH23: ADN Fab-CH23      | ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGCGC<br>GCACTCCGAG GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGGCTTG GTACAGCCTG<br>GGGGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCCT CTGGATTAC CTCAGTAAC<br>TACGACATGT ACTGGGTCCG CCAAACACTACA GGAAAAGGTC TGGAGTGGGT<br>CTCAGCTATT GGTACTGCTG GTGACACATA CTATCCAGGC TCCGTGAAGG<br>GCCGATTAC CATCTCCAGA GAAAATGCCA AGAACTCCTT GTATCTTCAA<br>ATGAACAGCC TGAGAGCCGG GGACACGGCT GTGTATTACT GTGCAAGAGA<br>GAAGTCTAGC ACCTCGGCCT TTGACTACTG GGGCCAGGGA ACCCTGGTCA<br>CCGTCTCCTC AGCCTCCACC AAGGGCCCGA GCGTGTITCC GCTGGCACCG<br>AGCAGCAAAA GCACCAGCGG TGGCACAGCA GCACTGGGTT GTCTGGTGAA<br>AGATTATTTT CCGGAACCGG TTACAGTTAG CTGGAATAGC GGTGCCCTGA<br>CCAGCGGTGT TCATACCTTT CCGGCAGTTC TGCAGAGCAG CGGTCTGTAT<br>AGCCTGTCTA GCGTTGTTAC CGTTCGAGC AGCAGCCTGG GCACCCAGAC<br>CTATATTTGC AATGTGAATC ATAAACCGAG CAATACCAA GTGGATAAAA<br>AAGTGGAGCC TAAGAGCTGT GACAAAATC ACACAGGTGG AGGCGGGTCC<br>GGTGGAGGCG GGTCCGGGG ACCGTCAGTC TTCTCTTCC CCCCAAAACC<br>CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACA TGCGTGGTGG<br>TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCTGAGGTCA AGTCAACTG GTACGTGGAC<br>GGCCTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG CCGCGGGAGG AGCAGTACAA<br>CAGCACGTAC CGTGTGGTCA GCGTCCCTCAC CGTCCCTGCAC CAGGACTGGC<br>TGAATGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGC CCTCCCAGCC<br>CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAGCCAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA<br>GGTGTACACC CTGCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAGGTCA<br>ACCTGACCTG CCTGGTCAAA GGCTTCTATC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG<br>TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA CGCCTCCCGT<br>GCTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCTCAA CAGCACCCCTC ACCGTGGACA<br>AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG<br>GCTCTGCACA ACCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CCCC GGTTAA<br>ATGA |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES  |   |   |  |   |   |
|------------|---|---|---|--|---|---|
| 73         | Variantes Fab-CH23: Proteína Fab-CH23 [M428L/N434S] | <p>MGWSCIIILFL<br/>YDMYWVRQTT<br/>MNSLRAGDTA<br/>SSKSTSGGTA<br/>SLSSVVTVPS<br/>GGGGSGGPSV<br/>GVEVHNAKTK<br/>PIEKTISKAK<br/>WESNGQPENN<br/>ALHSHYTQKS</p>   | <p>VATATGAHSE<br/>GKGLEWVSAI<br/>VYYCAREKSS<br/>ALGCLVKDYF<br/>SSLGTQTYIC<br/>FLFPPKPKDT<br/>PREEQYNSTY<br/>GQPREPQVYT<br/>YKTTTPVLDS<br/>LSLSPGK</p> | <p>VQLVESGGGL<br/>GTAGDTYYPG<br/>TSAFDYWGQG<br/>PEPVTVSWNS<br/>NMVNHKPSNTK<br/>LMISRTPEVT<br/>RVVSVLTVLH<br/>LPPSREEMTK<br/>DGSFFLNSTL</p> | <p>VQPGGSLRLS<br/>SVKGRFTISR<br/>TLVTVSSAST<br/>GALTSQVHTF<br/>VDKKVEPKSC<br/>CVVVDVSHED<br/>QDWLNGKEYK<br/>NQVNLTCCLK<br/>TVDKSRWQQG</p> | <p>CAASGFTFSN<br/>ENAKNSLYLQ<br/>KGPSVFPLAP<br/>PAVLQSSGLY<br/>DKTHTGGGGS<br/>PEVKFNWYVD<br/>CKVSNKALPA<br/>GFYPSDIAVE<br/>NVFSCSVLHE</p> |
| 74         | Variantes Fab-CH23: ADN Fab-CH23 [M428L/N434S]      | <p>ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGCCG<br/>GCACTCCGAG GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGGCTTG GTACAGCCTG<br/>GGGGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCCT CTGGATTAC CTTCAGTAAC<br/>TACGACATGT ACTGGGTCCG CCAAACACATA GGAAAAGGTC TGGAGTGGGT<br/>CTCAGCTATT GGTACTGCTG GTGACACATA CTATCCAGGC TCCGTGAAGG<br/>GCCGATTCAC CATCTCCAGA GAAAATGCCA AGAACTCCTT GTATCTTCAA<br/>ATGAACAGCC TGAGAGCCGG GGACACGGCT GTGTATTACT GTGCAAGAGA<br/>GAAGTCTAGC ACCTCGGCCT TTGACTACTG GGGCCAGGGA ACCCTGGTCA<br/>CCGTCTCCTC AGCCTCCACC AAGGGCCCCA GCGTGTTCCT GCTGGCACCG</p>   |   |  |   |   |
|            |   | <p>AGCAGCAAAA GCACCAGCGG TGGCACAGCA GCACTGGGTT GTCTGGTGAA<br/>AGATTATTTT CCGGAACCGG TTACAGTTAG CTGGAATAGC GGTGCCCTGA<br/>CCAGCGGTGT TCATACCTTT CCGGCAGTTC TGCAGAGCAG CCGTCTGTAT<br/>AGCCTGTCTA GCGTTGTTAC CGTTCGAGC AGCAGCCTGG GCACCCAGAC<br/>CTATATTTGC AATGTGAATC ATAAACCGAG CAATACCAAA GTGGATAAAA<br/>AAGTGGAGCC TAAGAGCTGT GACAAAACATC ACACAGGTGG AGGCGGGTCC<br/>GGTGGAGGCG GGTCCGGGGG ACCGTCAGTC TTCCTCTTCC CCCCCAAAACC<br/>CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACA TGCGTGGTGG<br/>TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCTGAGGTCA AGTTCAACTG GTACGTGGAC<br/>GGCGTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG CCGCGGGAGG AGCAGTACAA<br/>CAGCACGTAC CGTGTGGTCA GCGTCCTCAC CGTCTGCAC CAGGACTGGC<br/>TGAATGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGC CCTCCAGCC<br/>CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAGCCAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA<br/>GGTGTACACC CTGCCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCCGTCA<br/>ACCTGACCTG CCTGGTCAAA GGCTTCTATC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG<br/>TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA CGCCTCCCCT<br/>GCTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCTCAA CAGCACCTC ACCGTGGACA<br/>AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GCTGCATGAG<br/>GCTCTGCACA GCCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CCCC GGTTAA<br/>ATGA</p> |   |  |   |   |
| 75         | Variantes Fab-CH23: Proteína Fab-CH23 [H310A/H433A] | <p>MGWSCIIILFL<br/>YDMYWVRQTT<br/>MNSLRAGDTA<br/>SSKSTSGGTA<br/>SLSSVVTVPS<br/>GGGGSGGPSV<br/>GVEVHNAKTK<br/>PIEKTISKAK<br/>WESNGQPENN<br/>ALANHYTQKS</p>   | <p>VATATGAHSE<br/>GKGLEWVSAI<br/>VYYCAREKSS<br/>ALGCLVKDYF<br/>SSLGTQTYIC<br/>FLFPPKPKDT<br/>PREEQYNSTY<br/>GQPREPQVYT<br/>YKTTTPVLDS<br/>LSLSPGK</p> | <p>VQLVESGGGL<br/>GTAGDTYYPG<br/>TSAFDYWGQG<br/>PEPVTVSWNS<br/>NMVNHKPSNTK<br/>LMISRTPEVT<br/>RVVSVLTVLA<br/>LPPSREEMTK<br/>DGSFFLNSTL</p> | <p>VQPGGSLRLS<br/>SVKGRFTISR<br/>TLVTVSSAST<br/>GALTSQVHTF<br/>VDKKVEPKSC<br/>CVVVDVSHED<br/>QDWLNGKEYK<br/>NQVNLTCCLK<br/>TVDKSRWQQG</p> | <p>CAASGFTFSN<br/>ENAKNSLYLQ<br/>KGPSVFPLAP<br/>PAVLQSSGLY<br/>DKTHTGGGGS<br/>PEVKFNWYVD<br/>CKVSNKALPA<br/>GFYPSDIAVE<br/>NVFSCSVLHE</p> |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES  |  |
|------------|---|--|
| 76         | Variantes Fab-CH23: ADN Fab-CH23 [H310A/H433A]  | <p>ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGCCG<br/> GCACTCCGAG GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGGCTTG GTACAGCCTG<br/> GGGGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCCT CTGGATTAC CTTAGTAAC<br/> TACGACATGT ACTGGGTCCG CCAAACACTACA GGAAAAGGTC TGGAGTGGGT<br/> CTCAGCTATT GGTACTGCTG GTGACACATA CTATCCAGGC TCCGTGAAGG<br/> GCCGATTAC CATCTCCAGA GAAAATGCCA AGAACTCCTT GTATCTTCAA<br/> ATGAACAGCC TGAGAGCCGG GGACACGGCT GTGTATTACT GTGCAAGAGA<br/> GAAGTCTAGC ACCTCGGCCT TTGACTACTG GGGCCAGGGA ACCCTGGTCA<br/> CCGTCTCCTC AGCCTCCACC AAGGGCCCGA GCGTGTTC GCTGGCACC<br/> AGCAGCAAAA GCACCAGCGG TGGCACAGCA GCACTGGGTT GTCTGGTGAA<br/> AGATTATTTT CCGGAACCGG TTACAGTTAG CTGGAATAGC GGTGCCCTGA<br/> CCAGCGGTGT TCATACCTTT CCGGCAGTTC TGCAGAGCAG CCGTCTGTAT<br/> AGCCTGTCTA GCGTTGTTAC CGTTCGAGC AGCAGCCTGG GCACCCAGAC<br/> CTATATTTGC AATGTGAATC ATAAACCGAG CAATACCAAA GTGGATAAAA<br/> AAGTGGAGCC TAAGAGCTGT GACAAAAC ACACAGGTGG AGGCGGGTCC<br/> GGTGGAGGCG GGTCCGGGGG ACCGTCAGTC TTCTCTTCC CCCCCAAC<br/> CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACA TGCGTGGTGG<br/> TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCTGAGGTCA AGTTCAACTG GTACGTGGAC<br/> GGCGTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG CCGCGGGAGG AGCAGTCAA<br/> CAGCACGTAC CGTGTGGTCA GCGTCCTCAC CGTCCTGGCC CAGGACTGGC<br/> TGAATGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGC CCTCCCAGCC<br/> CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAGCCAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA<br/> GGTGTACACC CTGCCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAGGTCA<br/> ACCTGACCTG CCTGGTCAA GGCTTCTATC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG<br/> TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA CGCCTCCCGT<br/> GCTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCTCAA CAGCACCTC ACCGTGGACA<br/> AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG<br/> GCTCTGGCCA ACCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CCCC GGTTAA<br/> ATGA</p> |
| 77         | Variantes Fab-CH23: Proteína Fab-CH23-0XGS-CH23 | <p>MGWSCIILFL VATATGAHSE VQLVESGGGL VQPGGSLRLS CAASGFTFSN<br/> YDMYWVRQTT GKGLEWVSAI GTAGDTYYPG SVKGRFTISR ENAKNSLYLQ<br/> MNSLRAGDTA VYYCAREKSS TSAFDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP<br/> SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY</p>  |
|            |   | <p>SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKHTGGGGG<br/> GGGGSGGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD<br/> GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA<br/> PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVNLTCCLVK GFYPSDIAVE<br/> WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLNSTL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE<br/> ALHNHYTQKS LSLSPGPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED<br/> PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK<br/> CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVNLTCCLVK<br/> GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLNSTL TVDKSRWQQG<br/> NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK</p>   |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES  |   |
|------------|---|---|
| 78         | Variantes Fab-CH23: ADN Fab-CH23-0XGS-CH23      | <p>ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGCGC<br/> GCACTCCGAG GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGGCTTG GTACAGCCTG<br/> GGGGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCCT CTGGATTCAC CTTCAGTAAC<br/> TACGACATGT ACTGGGTCCG CCAAACACTACA GGAAAAGGTC TGGAGTGGGT<br/> CTCAGCTATT GGTACTGCTG GTGACACATA CTATCCAGGC TCCGTGAAGG<br/> GCCGATTCAC CATCTCCAGA GAAAATGCCA AGAACTCCTT GTATCTTCAA<br/> ATGAACAGCC TGAGAGCCGG GGACACGGCT GTGTATTACT GTGCAAGAGA<br/> GAAGTCTAGC ACCTCGGCCT TTGACTACTG GGGCCAGGGA ACCCTGGTCA<br/> CCGTCTCCTC AGCCTCCACC AAGGGCCCGA GCGTGTTCCT GCTGGCACC<br/> AGCAGCAAAA GCACCAGCGG TGGCACAGCA GCCTGGGTTT GTCTGGTGAA<br/> AGATTATTTT CCGGAACCGG TTACAGTTAG CTGGAATAGC GGTGCCCTGA<br/> CCAGCGGTGT TCATACCTTT CCGGCAGTTC TGCAGAGCAG CCGTCTGTAT<br/> AGCCTGTCTA GCGTTGTTAC CGTTCGAGC AGCAGCCTGG GCACCCAGAC<br/> CTATATTTGC AATGTGAATC ATAAACCGAG CAATACCAAA GTGGATAAAA<br/> AAGTGGAGCC TAAGAGCTGT GACAAAACCTC ACACAGGTGG AGGCGGGTCC<br/> GGTGGAGGCG GGTCCGGGGG ACCGTCAGTC TTCTCTTCC CCCCAAAACC<br/> CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACA TGCGTGGTGG<br/> TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCTGAGGTCA AGTCAACTG GTACGTGGAC<br/> GGCGTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG CCGCGGGAGG AGCAGTACAA<br/> CAGCACGTAC CGTGTGGTCA GCGTCTCAC CGTCTGCAC CAGGACTGGC<br/> TGAATGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGC CCTCCCAGCC<br/> CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAGCCAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA<br/> GGTGTACACC CTGCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAGGTCA<br/> ACCTGACCTG CCTGGTCAAA GGCTTCTATC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG<br/> TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA CGCTCCCGT<br/> GCTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCTCAA CAGCACCTC ACCGTGGACA<br/> AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG<br/> GCTCTGCACA ACCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CCCCAGGTGG<br/> GGGACCGTCA GTCTTCTCT TCCCCCAAA ACCCAAGGAC ACCCTCATGA<br/> TCTCCCGGAC CCCTGAGGTG ACATGCGTGG TGGTGGACGT GAGCCACGAA<br/> GACCCTGAGG TCAAGTTCAA CTGGTACGTG GACGGCGTGG AGGTGCATAA<br/> TGCCAAGACA AAGCCGCGGG AGGAGCAGTA CAACAGCACG TACCGTGTGG<br/> TCAGCGTCCT CACCGTCCTG CACCAGGACT GGCTGAATGG CAAGGAGTAC<br/> AAGTGCAAGG TCTCCAACAA AGCCCTCCA GCCCCATCG AGAAAACCAT<br/> CTCCAAAGCC AAAGGCGAGC CCGAGAACCC ACAGGTGTAC ACCCTGCCCC<br/> CATCCCGGGA GGAGATGACC AAGAACCAGG TCAACCTGAC CTGCTGGTCT<br/> AAAGGCTTCT ATCCCAGCGA CATCGCCGTG GAGTGGGAGA GCAATGGGCA<br/> GCCGGAGAAC AACTACAAGA CCACGCCTCC CGTGTGGGAC TCCGACGGCT<br/> CCTTCTTCT CAACAGCACC CTCACCGTGG ACAAGAGCAG GTGGCAGCAG<br/> GGGAACGTCT TCTCATGCTC CGTGATGCAT GAGGCTCTGC ACAACCACTA<br/> CACGCAGAAG AGCCTCTCCC TGTCCCCGGG TAAATGA</p> |
| 79         | Variantes Fab-CH23: Proteína Fab-CH23-1XGS-CH23 | <p>MGWSCIIIFL VATATGAHSE_VQLVESGGGL VQPGGSLRLS CAASGFTFSN<br/> YDMYWVRQTT GKGLEWVSAI GTAGDTYYPG SVKGRFTISR ENAKNSLYLQ<br/> MNSLRAGDTA VYYCAREKSS TSAFDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP<br/> SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY<br/> SLSSVTVPS SSLGTQTYIC NVNHNKPSNTK VDKKVEPKSK DKHTHTGGGS<br/> GGGSGGPSV FLFPPKPKDT LMI SRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD<br/> GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA<br/> PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVNLTCCLVK GFYPSDIAVE<br/> WESNGQPENN YKTTTPVLDL DGSFFLNSLT TVDKSRWQQG NWFSCSVMHE<br/> ALHNHYTQKS LSLSPGGGGS GGPSVFLFPP KPKDTLMISR TPEVTCVVVD<br/> VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV LTVLHQDWLNL<br/> GKEYKCKVSN KALPAPIEKT ISKAKGQPRE PQVYTLPPSR EEMTKNQVNL</p>   |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES                                   |   |
|------------|--|---|
|            |  | TCLVKGFYPS DIAVEWESNG QPENNYKTP PVLDSGDSFF LNSTLTVDKS<br>RWQQGNVFSC SVMHEALHNH YTQKSLSLSP GK  |
| 80         | Variantes Fab-CH23: ADN Fab-CH23-1XGS-CH23 | ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGCGC<br>GCACTCCGAG GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGGCTTG GTACAGCCTG<br>GGGGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCCT CTGGATTAC CTTCAGTAAC<br>TACGACATGT ACTGGGTCCG CCAAACACTACA GGAAAAGGTC TGGAGTGGGT<br>CTCAGCTATT GGTACTGCTG GTGACACATA CTATCCAGGC TCCGTGAAGG<br>GCCGATTCAC CATCTCCAGA GAAAATGCCA AGAACTCCTT GTATCTTCAA<br>ATGAACAGCC TGAGAGCCGG GGACACGGCT GTGTATTACT GTGCAAGAGA<br>GAAGTCTAGC ACCTCGGCCT TTGACTACTG GGGCCAGGGA ACCCTGGTCA<br>CCGTCTCCTC AGCCTCCACC AAGGGCCCGA GCGTGTTCCT GCTGGACCCG<br>AGCAGCAAAA GCACCAGCGG TGGCACAGCA GCACTGGGTT GTCTGGTGAA<br>AGATTATTTT CCGGAACCGG TTACAGTTAG CTGGAATAGC GGTGCCCTGA<br>CCAGCGGTGT TCATACCTTT CCGGCAGTTC TGCAGAGCAG CCGTCTGTAT<br>AGCCTGTCTA GCGTTGTTAC CGTTCGAGC AGCAGCCTGG GCACCCAGAC<br>CTATATTTGC AATGTGAATC ATAAACCGAG CAATACCAAA GTGGATAAAA<br>AAGTGGAGCC TAAGAGCTGT GACAAAACCTC ACACAGGTGG AGGCGGGTCC<br>GGTGGAGGCG GGTCCGGGGG ACCGTCAGTC TTCCTCTTCC CCCCAAAACC<br>CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACA TCGGTGGTGG<br>TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCTGAGGTCA AGTTCAACTG GTACGTGGAC<br>GCGGTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG CCGCGGGAGG AGCAGTACAA<br>CAGCACGTAC CGTGTGGTCA GCGTCCTCAC CGTCCTGCAC CAGGACTGGC<br>TGAATGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGC CCTCCCAGCC<br>CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAGCCAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA<br>GGTGTACACC CTGCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAGGTCA<br>ACCTGACCTG CCTGGTCAA GGCTTCTATC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG<br>TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA CGCCTCCCGT<br>GCTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCTCAA CAGCACCTC ACCGTGGACA<br>AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG<br>GCTCTGCACA ACCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CCCCAGGTGG<br>TGGCGGCTCC GGGGGACCGT CAGTCTTCTT CTTCCTTCTT AAACCCAAGG<br>ACACCCTCAT GATCTCCCGG ACCCCTGAGG TCACATGCGT GGTGGTGGAC<br>GTGAGCCACG AAGACCCTGA GGTCAAGTTC AACTGGTACG TGGACGGCGT<br>GGAGGTGCAT AATGCCAAGA CAAAGCCGCG GGAGGAGCAG TACAACAGCA<br>CGTACCGTGT GGTCAGCGTC CTCACCGTCC TGCACCAGGA CTGGCTGAAT<br>GGCAAGGAGT ACAAGTGCAA GGTCTCCAAC AAAGCCCTCC CAGCCCCAT<br>CGAGAAAACC ATCTCCAAAG CCAAAGGGCA GCCCCGAGAA CCACAGGTGT<br>ACACCCTGCC CCCATCCCGG GAGGAGATGA CCAAGAACCA GGTCAACCTG<br>ACCTGCCTGG TCAAAGGCTT CTATCCCAGC GACATCGCCG TGGAGTGGGA<br>GAGCAATGGG CAGCCGGAGA ACAACTACAA GACCACGCCT CCCGTGCTGG<br>ACTCCGACGG CTCCTTCTTC CTCAACAGCA CCCTCACCGT GGACAAGAGC<br>AGGTGGCAGC AGGGGAACGT CTTCTCATGC TCCGTGATGC ATGAGGCTCT<br>GCACAACCAC TACACGCAGA AGAGCCTCTC CCTGTCCCCG GGTAAATGA |



ES 2 664 095 T3

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES  |   |
|------------|---|---|
| 81         | Variantes Fab-CH23: Proteína Fab-CH23-2XGS-CH23 | <p> <u>MGWSCIIILFL</u> <u>VATATGAHSE</u> <u>VQLVESGGGL</u> <u>VQPGGSLRLS</u> <u>CAASGFTFSN</u><br/> <u>YDMYWVRQTT</u> <u>GKGLEWVSAI</u> <u>GTAGDTYYPG</u> <u>SVKGRFTISR</u> <u>ENAKNSLYLQ</u><br/> <u>MNSLRAGDTA</u> <u>VYYCAREKSS</u> <u>TSAFDYWQQG</u> <u>TLVTVSSAST</u> <u>KGPSVFPLAP</u><br/> <u>SSKSTSGGTA</u> <u>ALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNS</u> <u>GALTSGVHTF</u> <u>PAVLQSSGLY</u><br/> <u>SLSSVVTVPS</u> <u>SSLGTQTYIC</u> <u>NVNHKPSNTK</u> <u>VDKKVEPKSC</u> <u>DKTHTGGGGS</u><br/> <u>GGGGSGGPSV</u> <u>FLFPPKPKDT</u> <u>LMISRTPEVT</u> <u>CVVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVD</u><br/> <u>GVEVHNAKTK</u> <u>PREEQYNSTY</u> <u>RVVSVLTVLH</u> <u>QDWLNGKEYK</u> <u>CKVSNKALPA</u><br/> <u>PIEKTISKAK</u> <u>GQPREPQVYT</u> <u>LPPSREEMTK</u> <u>NQVNLTCCLK</u> <u>GFYPSDIAVE</u><br/> <u>WESNGQPENN</u> <u>YKTTTPVLDS</u> <u>DGSFFLNSTL</u> <u>TVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVME</u><br/> <u>ALHNHYTQKS</u> <u>LSLSPGGGGS</u> <u>GGGGSGGPSV</u> <u>FLFPPKPKDT</u> <u>LMISRTPEVT</u><br/> <u>CVVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVD</u> <u>GVEVHNAKTK</u> <u>PREEQYNSTY</u> <u>RVVSVLTVLH</u><br/> <u>QDWLNGKEYK</u> <u>CKVSNKALPA</u> <u>PIEKTISKAK</u> <u>GQPREPQVYT</u> <u>LPPSREEMTK</u><br/> <u>NQVNLTCCLK</u> <u>GFYPSDIAVE</u> <u>WESNGQPENN</u> <u>YKTTTPVLDS</u> <u>DGSFFLNSTL</u><br/> <u>TVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVME</u> <u>ALHNHYTQKS</u> <u>LSLSPGK</u> </p> |
| 82         | Variantes Fab-CH23: ADN Fab-CH23-2XGS-CH23      | <p> <u>ATGGGATGGA</u> <u>GCTGTATCAT</u> <u>CCTCTTCTTG</u> <u>GTAGCAACAG</u> <u>CTACAGGCGC</u><br/> <u>GCACTCCGAG</u> <u>GTGCAGCTGG</u> <u>TGGAGTCTGG</u> <u>GGGAGGCTTG</u> <u>GTACAGCCTG</u><br/> <u>GGGGGTCCCT</u> <u>GAGACTCTCC</u> <u>TGTGCAGCCT</u> <u>CTGGATTCAC</u> <u>CTTCAGTAAC</u><br/> <u>TACGACATGT</u> <u>ACTGGGTCCG</u> <u>CCAAACTACA</u> <u>GGAAAAGGTC</u> <u>TGGAGTGGGT</u><br/> <u>CTCAGCTATT</u> <u>GGTACTGCTG</u> <u>GTGACACATA</u> <u>CTATCCAGGC</u> <u>TCCGTGAAGG</u><br/> <u>GCCGATTAC</u> <u>CATCTCCAGA</u> <u>GAAAATGCCA</u> <u>AGAACTCCTT</u> <u>GTATCTTCAA</u> </p>  |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES  |   |
|------------|---|---|
|            |   | <p>ATGAACAGCC TGAGAGCCGG GGACACGGCT GTGTATTACT GTGCAAGAGA<br/> GAAGTCTAGC ACCTCGGCCT TTGACTACTG GGGCCAGGGA ACCCTGGTCA<br/> CCGTCTCCTC AGCCTCCACC AAGGGCCCGA GCGTGTTC GCTGGCACCG<br/> AGCAGCAAAA GCACCAGCGG TGGCACAGCA GCACTGGGT GTCTGGTGAA<br/> AGATTATTTT CCGGAACCGG TTACAGTTAG CTGGAATAGC GGTGCCCTGA<br/> CCAGCGGTGT TCATACCTTT CCGGCAGTTC TGCAGAGCAG CCGTCTGTAT<br/> AGCCTGTCTA GCGTTGTTAC CGTTCOGAGC AGCAGCCTGG GCACCCAGAC<br/> CTATATTTGC AATGTGAATC ATAAACCGAG CAATACCAAA GTGGATAAAA<br/> AAGTGGAGCC TAAGAGCTGT GACAAAACCTC ACACAGGTGG AGGCGGGTCC<br/> GGTGGAGGCG GGTCCGGGGG ACCGTCAGTC TTCCTCTTCC CCCCCAAACC<br/> CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACA TGCGTGGTGG<br/> TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCTGAGGTCA AGTTCAACTG GTACGTGGAC<br/> GGCGTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG CCGCGGGAGG AGCAGTACAA<br/> CAGCACGTAC CGTGTGGTCA GCGTCTCAC CGTCTGCAC CAGGACTGGC<br/> TGAATGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGC CCTCCAGCC<br/> CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAGCCAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA<br/> GGTGTACACC CTGCCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACAGGTCA<br/> ACCTGACCTG CCTGGTCAAA GGCTTCTATC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG<br/> TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA CGCCTCCCGT<br/> GCTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCTCAA CAGCACCTC ACCGTGGACA<br/> AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG<br/> GCTCTGCACA ACCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CCCCGGGTGG<br/> TGGCGGCTCC GGCGGTGGAG GGTCTGGGG ACCGTCAGTC TTCTCTTCC<br/> CCCCAAACC CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACA<br/> TGCGTGGTGG TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCTGAGGTCA AGTTCAACTG<br/> GTACGTGGAC GGCGTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG CCGCGGGAGG<br/> AGCAGTACAA CAGCACGTAC CGTGTGGTCA GCGTCTCAC CGTCTGCAC<br/> CAGGACTGGC TGAATGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGC<br/> CCTCCAGCC CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAGCCAAA GGGCAGCCCC<br/> GAGAACCACA GGTGTACACC CTGCCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG<br/> AACCAGGTCA ACCTGACCTG CCTGGTCAAA GGCTTCTATC CCAGCGACAT<br/> CGCCGTGGAG TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA<br/> CGCCTCCCGT GCTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCTCAA CAGCACCTC<br/> ACCGTGGACA AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT<br/> GATGCATGAG GCTCTGCACA ACCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT<br/> CCCCGGTAA ATGA</p> |
| 83         | Variantes Fab-CH23: Proteína Fab-CH23-3XGS-CH23 | <p><u>MGWSCIIILFL</u> <u>VATATGAHSE</u> <u>VQLVESGGGL</u> <u>VQPGGSLRLS</u> <u>CAASGFTFSN</u><br/> YDMYWVRQTT GKGLEWVSAI GTAGDTYYPG SVKGRFTISR ENAKNSLYLQ<br/> MNSLRAGDTA VYYCAREKSS TSAFDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP<br/> SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY<br/> SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKHTHGGGGS<br/> GGGSGGSPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD<br/> GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA<br/> PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVNLTCVVK<br/> WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFF<br/> ALHNHYTQKS <u>LSLSPGGGGS</u> <u>GGGSGGGGS</u> <u>GGPSVFLFPP</u> <u>KPKDTLMISR</u><br/> TPEVTCVVVD VSHEDPEVKF NWYVDGVEVH NAKTKPREEQ YNSTYRVVSV<br/> LTVLHQDWLNLTK GKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSR<br/> EEMTKNQVNL TCLVKGFYPSDIKAEVWESNQPENNYKTTTPVLDSDGSFF<br/> LNSTLTVDKSRWQQGNVVFSC SVMHEALHNNH YTQKSLSLSP GK</p>   |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES                                   |            |            |            |             |             |            |            |             |            |
|------------|--|------------|------------|------------|-------------|-------------|------------|------------|-------------|------------|
| 84         | Variantes Fab-CH23: ADN Fab-CH23-3XGS-CH23 | ATGGGATGGA | GCTGTATCAT | CCTCTTCTTG | GTAGCAACAG  | CTACAGGCGC  | GGGAGGCTTG | GTACAGCCTG | CTGCAGCCT   | CTGCAGTAA  |
|            |  | GCCGATTAC  | CATCTCCAGA | GAAAATGCCA | AGAACTCCTT  | GTATCTTCAA  | ATGAACAGCC | TGAGAGCCGG | GGACACGGCT  | GTGTATTACT |
|            |  | GAAGTCTAGC | ACCTCGGCCT | TTGACTACTG | GGGCCAGGGA  | ACCCCTGGTCA | CCGTCTCCTC | AGCCTCCACC | AAGGGCCCGA  | GCGTGTTC   |
|            |  | AGCAGCAAAA | GCACCAGCGG | TGGCACAGCA | GCACTGGGTT  | GTCTGGTGAA  | AGATTATTTT | CCGGAACCGG | TTACAGTTAG  | CTGGAATAGC |
|            |  | CCAGCGGTGT | TCATACCTTT | CCGGCAGTTC | TGCAGAGCAG  | CGGTCTGTAT  | AGCCTGTCTA | GCGTTGTTAC | CGTTCGGAGC  | AGCAGCCTGG |
|            |  | CTATATTTGC | AATGTGAATC | ATAAACCGAG | CAATACCAAA  | GTGGATAAAA  | AAGTGGAGCC | TAAGAGCTGT | GACAAAACCTC | ACACAGGTGG |
|            |  | GGTGGAGGCG | GGTCCGGGGG | ACCGTCAGTC | TTCTCTTCC   | CCCCAAAACC  | CAAGGACACC | CTCATGATCT | CCCGGACCCC  | TGAGGTCACA |
|            |  | TGGACGTGAG | CCACGAAGAC | CCTGAGGTCA | AGTCAACTG   | GTACGTGGAC  | GGCGTGGAGG | TGCATAATGC | CAAGACAAAG  | CCGCGGGAGG |
|            |  | CAGCACGTAC | CGTGTGGTCA | GCGTCTCAC  | CGTCTGCAC   | CAGGACTGGC  | TGAATGGCAA | GGAGTACAAG | TGCAAGGTCT  | CCAACAAAGC |
|            |  | CCCATCGAGA | AAACCATCTC | CAAAGCCAAA | GGGCAGCCCC  | GAGAACCACA  | GGTGTACACC | CTGCCCCCAT | CCCGGGAGGA  | GATGACCAAG |
|            |  | ACCTGACCTG | CCTGGTCAA  | GGCTTCTATC | CCAGCGACAT  | CGCCGTGGAG  | TGGGAGAGCA | ATGGGCAGCC | GGAGAACAAC  | TACAAGACCA |
|            |  | GCTGGACTCC | GACGGCTCCT | TCTTCTCAA  | CAGCACCCCTC | ACCGTGGACA  | AGAGCAGGTG | GCAGCAGGGG | AACGTCTTCT  | CATGCTCCGT |
|            |  | GCTCTGCACA | ACCACTACAC | GCAGAAGAGC | CTCTCCCTGT  | CCCCGGGTGG  | TGGCGGCTCC | GGAGGTGGCG | GAAGCGGGCG  | TGGAGGGTCT |
|            |  | CAGTCTTCCT | CTTCCCCCA  | AAACCCAAGG | ACACCCTCAT  | GATCTCCCGG  | ACCCCTGAGG | TCACATGCGT | GGTGGTGGAC  | GTGAGCCACG |
|            |  | GGTCAAGTTC | AACTGGTACG | TGGACGGCGT | GGAGGTGCAT  | AATGCCAAGA  | CAAAGCCGCG | GGAGGAGCAG | TACAACAGCA  | CGTACCGTGT |
|            |  | CTCACCGTCC | TGCACCAGGA | CTGGCTGAAT | GGCAAGGAGT  | ACAAGTGCAA  | GGTCTCCAAC | AAAGCCCTCC | CAGCCCCCAT  | CGAGAAAACC |
|            |  | CCAAAGGGCA | GCCCCGAGAA | CCACAGGTGT | ACACCCTGCC  | CCCATCCCGG  | GAGGAGATGA | CCAAGAACCA | GGTCAACCTG  | ACCTGCCTGG |
|            |  | CTATCCCAGC | GACATCGCCG | TGGAGTGGGA | GAGCAATGGG  | CAGCCGGAGA  | ACAACTACAA | GACCACGCCT | CCCGTGCTGG  | ACTCCGACGG |
|            |  | CTCAACAGCA | CCCTCACCCT | GGACAAGAGC | AGGTGGCAGC  | AGGGGAACGT  | CTTCTCATGC | TCCGTGATGC | ATGAGGCTCT  | GCACAACCAC |
|            |  | AGAGCCTCTC | CCTGTCCCCG | GGTAAATGA  |             |             |            |            |             |            |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES  |  |
|------------|---|--|
| 85         | Variantes Fab-CH23: Proteína Fab-CH23-4XGS-CH23 | <p>MGWSCIIILFL VATATGAHSE VQLVESGGGL VQPGGSLRLS CAASGFTFSN<br/> YDMYWVRQTT GKGLEWVSAI GTAGDTYYPG SVKGRFTISR ENAKNSLYLQ<br/> MNSLRAGDTA VYYCAREKSS TSAFDYWGQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP<br/> SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY<br/> SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTGGGGS<br/> GGGSGGSPSV FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD<br/> GVEVHNAKTK PREEQYNSTY RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA<br/> PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSREEMTK NQVNLTCCLK GFYPSDIAVE<br/> WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLNSTL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE<br/> ALHNHYTQKS LSLSPGGGGS GGGGSGGGGS GGGGSGGSPSV FLFPPKPKDT<br/> LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY<br/> RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT<br/> LPPSREEMTK NQVNLTCCLK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS<br/> DGSFFLNSTL TVDKSRWQQG NVFSCSVMHE ALHNHYTQKS LSLSPGK</p>   |
| 86         | Variantes Fab-CH23: ADN Fab-CH23-4XGS-CH23      | <p>ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGCGC<br/> GCACTCCGAG GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGGCTTG GTACAGCCTG<br/> GGGGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCCT CTGGATTAC CTTACAGTAAC<br/> TACGACATGT ACTGGGTCCG CCAAACACTACA GGAAAAGGTC TGGAGTGGGT<br/> CTCAGCTATT GGTACTGCTG GTGACACATA CTATCCAGGC TCCGTGAAGG<br/> GCCGATTCAC CATCTCCAGA GAAAATGCCA AGAACTCCTT GTATCTTCAA<br/> ATGAACAGCC TGAGAGCCGG GGACACGGCT GTGTATTACT GTGCAAGAGA<br/> GAAGTCTAGC ACCTCGGCCT TTGACTACTG GGGCCAGGGA ACCCTGGTCA<br/> CCGTCTCCTC AGCCTCCACC AAGGGCCCGA GCGTGTTCCT GCTGGCACC<br/> AGCAGCAAAA GCACCAGCGG TGGCACAGCA GCACTGGGTT GTCTGGTGAA<br/> AGATTATTTT CCGGAACCGG TTACAGTTAG CTGGAATAGC GGTGCCCTGA<br/> CCAGCGGTGT TCATACCTTT CCGGCAGTTC TGCAGAGCAG CCGTCTGTAT<br/> AGCCTGTCTA GCGTTGTTAC CGTTCAGAGC AGCAGCCTGG GCACCCAGAC<br/> CTATATTTGC AATGTGAATC ATAAACCGAG CAATACCAA GTGGATAAAA<br/> AAGTGGAGCC TAAGAGCTGT GACAAAATC ACACAGGTGG AGGCGGGTCC<br/> GGTGGAGGCG GGTCCGGGGG ACCGTCAGTC TTCCTCTTCC CCCCAAAACC<br/> CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACA TGCCTGGTGG<br/> TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCTGAGGTCA AGTTCAACTG GTACGTGGAC<br/> GGCGTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG CCGCGGGAGG AGCAGTACAA<br/> CAGCACGTAC CGTGTGGTCA GCGTCCTCAC CGTCTGAC CAGGACTGGC</p> |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES  |  |
|------------|---|--|
|            |   | <p>TGAATGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGC CCTCCCAGCC<br/>           CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAGCCAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA<br/>           GGTGTACACC CTGCCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAGGTCA<br/>           ACCTGACCTG CCTGGTCAAA GGCTTCTATC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG<br/>           TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA CGCCTCCCGT<br/>           GCTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCCTCAA CAGCACCCCTC ACCGTGGACA<br/>           AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG<br/>           GCTCTGCACA ACCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CCCCGGGTGG<br/>           TGGCGGCTCC GGAGGTGGCG GAAGCGGCGG TGGAGGGTCT GGTGGAGGAG<br/>           GGTCAAGGGG ACCGTCAGTC TTCTCTTCC CCCCAAAACC CAAGGACACC<br/>           CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACA TCGGTGGTGG TGGACGTGAG<br/>           CCACGAAGAC CCTGAGGTCA AGTTCAACTG GTACGTGGAC GGCGTGGAGG<br/>           TGCATAATGC CAAGACAAAG CCGCGGGAGG AGCAGTACAA CAGCACGTAC<br/>           CGTGTGGTCA GCGTCCTCAC CGTCCTGCAC CAGGACTGGC TGAATGGCAA<br/>           GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGC CCTCCCAGCC CCCATCGAGA<br/>           AAACCATCTC CAAAGCCAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA GGTGTACACC<br/>           CTGCCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAGGTCA ACCTGACCTG<br/>           CCTGGTCAAA GGCTTCTATC CCAGCGACAT CGCCGTGGAG TGGGAGAGCA<br/>           ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA CGCCTCCCGT GCTGGACTCC<br/>           GACGGCTCCT TCTTCCTCAA CAGCACCCCTC ACCGTGGACA AGAGCAGGTG<br/>           GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG GCTCTGCACA<br/>           ACCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CCCCGGGTAA ATGA</p> |
| 87         | Variantes Fab-CH23: Proteína Fab-CH23-5XGS-CH23 | <p><u>MGWSCIILFL</u> <u>VATATGAHSE</u> <u>VQLVESGGGL</u> <u>VQPGGSLRLS</u> <u>CAASGFTFSN</u><br/> <u>YDMYWVRQTT</u> <u>GKGLEWVSAI</u> <u>GTAGDTYYPG</u> <u>SVKGRFTISR</u> <u>ENAKNSLYLQ</u><br/> <u>MNSLRAGDTA</u> <u>VYYCAREKSS</u> <u>TSAFDYWGQG</u> <u>TLVTVSSAST</u> <u>KGPSVFPLAP</u><br/> <u>SSKSTSGGTA</u> <u>ALGCLVKDYF</u> <u>PEPVTVSWNS</u> <u>GALTSVHTF</u> <u>PAVLQSSGLY</u><br/> <u>SLSSVVTVPS</u> <u>SSLGTQTYIC</u> <u>NVNHKPSNTK</u> <u>VDKKEPKSC</u> <u>DKHTGGGGS</u><br/> <u>GGGSGGSPSV</u> <u>FLFPPKPKDT</u> <u>LMISRTPEVT</u> <u>CVVVDVSHED</u> <u>PEVKFNWYVD</u><br/> <u>GVEVHNAKTK</u> <u>PREEQYNSTY</u> <u>RVVSVLTVLH</u> <u>QDWLNGKEYK</u> <u>CKVSNKALPA</u><br/> <u>PIEKTISKAK</u> <u>GQPREPQVYT</u> <u>LPPSREEMTK</u> <u>NQVNLTCLVK</u> <u>GFYPSDIAVE</u><br/> <u>WESNGQPENN</u> <u>YKTTTPVLDS</u> <u>DGSFFLNSTL</u> <u>TVDKSRWQQG</u> <u>NVFSCSVMHE</u><br/> <u>ALHNHYTQKS</u> <u>LSLSPGGGGS</u> <u>GGGSGGGGS</u> <u>GGGSGGGGS</u> <u>GGPSVFLFPP</u><br/> <u>KPKDTLMISR</u> <u>TPEVTCVVVD</u> <u>VSHEDPEVKF</u> <u>NWYVDGVEVH</u> <u>NAKTKPREEQ</u><br/> <u>YNSTYRVVSV</u> <u>LTVLHQDWLN</u> <u>GKEYKCKVSN</u> <u>KALPAPIEKT</u> <u>ISKAKQPRE</u><br/> <u>PQVYTLPPSR</u> <u>EEMTKNQVNL</u> <u>TCLVKGFYPS</u> <u>DIAVEWESNG</u> <u>QPENNYKTP</u><br/> <u>PVLDS DGSFF</u> <u>LNSTLTVDKS</u> <u>RWQQGNVFSC</u> <u>SVMHEALHNH</u> <u>YTQKSLSLSP</u><br/>           GK</p>  |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES  |   |
|------------|---|---|
| 88         | Variantes Fab-CH23: ADN Fab-CH23-5XGS-CH23        | <p>ATGGGATGGA GCTGTATCAT CCTCTTCTTG GTAGCAACAG CTACAGGCGC<br/>                     GCACTCCGAG GTGCAGCTGG TGGAGTCTGG GGGAGGCTTG GTACAGCCTG<br/>                     GGGGGTCCCT GAGACTCTCC TGTGCAGCCT CTGGATTAC CTTCAGTAAC<br/>                     TACGACATGT ACTGGGTCCG CCAAACACTACA GGAAAAGGTC TGGAGTGGGT<br/>                     CTCAGCTATT GGTACTGCTG GTGACACATA CTATCCAGGC TCCGTGAAGG<br/>                     GCCGATTAC CATCTCCAGA GAAAATGCCA AGAACTCCTT GTATCTTCAA<br/>                     ATGAACAGCC TGAGAGCCGG GGACACGGCT GTGTATTACT GTGCAAGAGA<br/>                     GAAGTCTAGC ACCTCGGCCT TTGACTACTG GGGCCAGGGA ACCCTGGTCA<br/>                     CCGTCTCCTC AGCCTCCACC AAGGGCCCGA GCGTGTTCCT GCTGGCACCG<br/>                     AGCAGCAAAA GCACCAGCGG TGGCACAGCA GCACTGGGTT GTCTGGTGAA<br/>                     AGATTATTTT CCGGAACCGG TTACAGTTAG CTGGAATAGC GGTGCCCTGA<br/>                     CCAGCGGTGT TCATACCTTT CCGGCAGTTC TGCAGAGCAG CGGTCTGTAT<br/>                     AGCCTGTCTA GCGTTGTTAC CGTTCGGAGC AGCAGCCTGG GCACCCAGAC<br/>                     CTATATTTGC AATGTGAATC ATAAACCGAG CAATACCAAA GTGGATAAAA<br/>                     AAGTGGAGCC TAAGAGCTGT GACAAAACCTC ACACAGGTGG AGGCGGGTCC<br/>                     GGTGGAGGCC GGTCCGGGGG ACCGTCAGTC TTCTCTTCC CCCCCAACCC<br/>                     CAAGGACACC CTCATGATCT CCCGGACCCC TGAGGTCACA TGCGTGGTGG<br/>                     TGGACGTGAG CCACGAAGAC CCTGAGGTCA AGTTCAACTG GTACGTGGAC<br/>                     GGCGTGGAGG TGCATAATGC CAAGACAAAG CCGCGGGAGG AGCAGTACAA<br/>                     CAGCACGTAC CGTGTGGTCA GCGTCTCAC CGTCTGCAC CAGGACTGGC<br/>                     TGAATGGCAA GGAGTACAAG TGCAAGGTCT CCAACAAAGC CCTCCCAGCC<br/>                     CCCATCGAGA AAACCATCTC CAAAGCCAAA GGGCAGCCCC GAGAACCACA<br/>                     GGTGTACACC CTGCCCCAT CCCGGGAGGA GATGACCAAG AACCAGGTCA<br/>                     ACCTGACCTG CCTGGTCAA GGCTTCTATC CCAGCGACAT CGCGTGGAG<br/>                     TGGGAGAGCA ATGGGCAGCC GGAGAACAAC TACAAGACCA CGCTCCCGT<br/>                     GCTGGACTCC GACGGCTCCT TCTTCTCAA CAGCACCTC ACCGTGGACA</p> |
|            |   | <p>AGAGCAGGTG GCAGCAGGGG AACGTCTTCT CATGCTCCGT GATGCATGAG<br/>                     GCTCTGCACA ACCACTACAC GCAGAAGAGC CTCTCCCTGT CCCCAGGTGG<br/>                     TGGCGGCTCC GGAGGCGGAG GCTCCGGAGG TGGCGGAAGC GCGGTGGAG<br/>                     GGTCTGGTGG AGGAGGGTCA GGGGGACCGT CAGTCTTCTT CTTCCCCCA<br/>                     AAACCCAAGG ACACCCTCAT GATCTCCCGG ACCCTGAGG TCACATGCCG<br/>                     GGTGGTGGAC GTGAGCCACG AAGACCCTGA GGTCAAGTTC AACTGGTACG<br/>                     TGGACGGCGT GGAGGTGCAT AATGCCAAGA CAAAGCCGCG GGAGGAGCAG<br/>                     TACAACAGCA CGTACCGTGT GGTGAGCGTC CTCACCGTCC TGCACCAGGA<br/>                     CTGGCTGAAT GGCAAGGAGT ACAAGTGCAA GGTCTCCAAC AAAGCCCTCC<br/>                     CAGCCCCAT CGAGAAAACC ATCTCAAAG CCAAAGGGCA GCCCGAGAA<br/>                     CCACAGGTGT ACACCCTGCC CCCATCCCGG GAGGAGATGA CCAAGAACCA<br/>                     GGTCAACCTG ACCTGCCTGG TCAAAGGCTT CTATCCCAGC GACATCGCGG<br/>                     TGGAGTGGGA GAGCAATGGG CAGCCGGAGA ACAACTACAA GACCACGCTT<br/>                     CCCGTGCTGG ACTCCGACGG CTCCTTCTTC CTCAACAGCA CCTCACCGT<br/>                     GGACAAGAGC AGGTGGCAGC AGGGGAACGT CTTCTCATGC TCCGTGATGC<br/>                     ATGAGGCTCT GCACAACCAC TACACGCAGA AGAGCCTCTC CCTGTCCCCG<br/>                     GGTAATGA</p>  |
| 89         | Péptido enlazador G <sub>4</sub> S                | GGGGS   |
| 90         | Péptido enlazador (G <sub>4</sub> S) <sub>2</sub> | GGGGS GGGGS   |
| 91         | Péptido enlazador (G <sub>4</sub> S) <sub>3</sub> | GGGGS GGGGS GGGGS   |

(continuación)

| SEQ ID NO: | DETALLES  |                             |
|------------|---|-----------------------------|
| 92         | Péptido enlazador (G <sub>4</sub> S) <sub>4</sub> | GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS       |
| 93         | Péptido enlazador (G <sub>4</sub> S) <sub>5</sub> | GGGGSGGGGS GGGGSGGGGS GGGGS |

5 Aunque las enseñanzas desveladas se han descrito con referencia a diversas aplicaciones, procedimientos, y composiciones, se apreciará que se pueden realizar diversos cambios y modificaciones sin apartarse de las enseñanzas del presente documento y la invención reivindicada a continuación. Los anteriores ejemplos se proporcionan para ilustrar mejor las enseñanzas divulgadas, y no se pretende que limiten el ámbito de las enseñanzas presentadas en el presente documento. Aunque las actuales enseñanzas se han descrito en términos de estas realizaciones ilustrativas, el técnico experto comprenderá fácilmente que son posibles numerosas variaciones y modificaciones de estas realizaciones ilustrativas sin experimentación innecesaria. Dichas variaciones y modificaciones están comprendidas en el ámbito de las enseñanzas actuales.

10 La anterior descripción y los Ejemplos detallan determinadas realizaciones específicas de la invención y describen el mejor modo contemplado por los inventores. Se apreciará, sin embargo, que no importa cómo de detallado pueda aparecer lo anterior en el texto, la invención puede practicarse de muchos modos y la invención debe construirse de acuerdo con las reivindicaciones adjuntas.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 15 <110> PFIZER INC.  
Ishino, Tetsuya  
Kriz, Ronald William  
Duan, Weili
- <120> FRAGMENTOS DE ANTICUERPOS MONOMÉRICOS DISEÑADOS MEDIANTE INGENIERÍA GENÉTICA
- 20 <130> PC071962
- <160> 93
- <170> PatentIn versión 3.5
- <210> 1
- 25 <211> 104
- <212> PRT
- <213> Homo Sapiens
- <400> 1

ES 2 664 095 T3

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr  
 1 5 10 15

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 20 25 30

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 35 40 45

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 50 55 60

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 65 70 75 80

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 85 90 95

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 100

<210> 2  
 <211> 104  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens  
 5  
 <400> 2

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr  
 1 5 10 15

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser  
 20 25 30

Asp Ile Ser Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr  
 35 40 45

Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr  
 50 55 60

Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe  
 65 70 75 80

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys  
 85 90 95

Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 100



ES 2 664 095 T3

<210> 3  
 <211> 104  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

5 <400> 3

```

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
1                               5                               10                               15

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
                20                               25                               30

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
                35                               40                               45

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
50                               55                               60

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
65                               70                               75                               80

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
                85                               90                               95

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
                100
  
```

<210> 4  
 <211> 104  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

10 <400> 4

```

Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln Glu Glu Met Thr
1                               5                               10                               15

Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser
                20                               25                               30

Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr
                35                               40                               45

Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr
50                               55                               60

Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu Gly Asn Val Phe
65                               70                               75                               80

Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys
                85                               90                               95

Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
                100
  
```

<210> 5

ES 2 664 095 T3

<211> 104  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 5

Lys Ala Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Lys Glu Gln Met Ala  
 1 5 10 15

Lys Asp Lys Val Ser Leu Thr Cys Met Ile Thr Asp Phe Phe Pro Glu  
 20 25 30

Asp Ile Thr Val Glu Trp Gln Trp Asn Gly Gln Pro Ala Glu Asn Tyr  
 35 40 45

Lys Asn Thr Gln Pro Ile Met Asn Thr Asn Gly Ser Tyr Phe Val Tyr  
 50 55 60

Ser Lys Leu Asn Val Gln Lys Ser Asn Trp Glu Ala Gly Asn Thr Phe  
 65 70 75 80

Thr Cys Ser Val Leu His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Glu Lys  
 85 90 95

Ser Leu Ser His Ser Pro Gly Lys  
 100

5

<210> 6  
 <211> 104  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

10

<400> 6

Arg Ala Pro Gln Val Tyr Val Leu Pro Pro Pro Glu Glu Glu Met Thr  
 1 5 10 15

Lys Lys Gln Val Thr Leu Thr Cys Met Val Thr Asp Phe Met Pro Glu  
 20 25 30

Asp Ile Tyr Val Glu Trp Thr Asn Asn Gly Lys Thr Glu Leu Asn Tyr  
 35 40 45

Lys Asn Thr Glu Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Met Tyr  
 50 55 60

Ser Lys Leu Arg Val Glu Lys Lys Asn Trp Val Glu Arg Asn Ser Tyr  
 65 70 75 80

Ser Cys Ser Val Val His Glu Gly Leu His Asn His His Thr Thr Lys  
 85 90 95

Ser Phe Ser Arg Thr Pro Gly Lys  
 100

ES 2 664 095 T3

<210> 7  
 <211> 104  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

5 <400> 7

```

Arg Ala Pro Gln Val Tyr Ile Leu Pro Pro Pro Ala Glu Gln Leu Ser
1           5           10           15

Arg Lys Asp Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Val Gly Phe Asn Pro Gly
          20           25           30

Asp Ile Ser Val Glu Trp Thr Ser Asn Gly His Thr Glu Glu Asn Tyr
          35           40           45

Lys Asp Thr Ala Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Tyr Phe Ile Tyr
          50           55           60

Ser Lys Leu Asn Met Lys Thr Ser Lys Trp Glu Lys Thr Asp Ser Phe
65           70           75           80

Ser Cys Asn Val Arg His Glu Gly Leu Lys Asn Tyr Tyr Leu Lys Lys
          85           90           95

Thr Ile Ser Arg Ser Pro Gly Lys
          100
    
```

<210> 8  
 <211> 104  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

10 <400> 8

```

Gln Thr Pro Gln Val Tyr Thr Ile Pro Pro Pro Arg Glu Gln Met Ser
1           5           10           15

Lys Lys Lys Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Thr Asn Phe Phe Ser Glu
          20           25           30

Ala Ile Ser Val Glu Trp Glu Arg Asn Gly Glu Leu Glu Gln Asp Tyr
          35           40           45

Lys Asn Thr Pro Pro Ile Leu Asp Ser Asp Gly Thr Tyr Phe Leu Tyr
          50           55           60

Ser Lys Leu Thr Val Asp Thr Asp Ser Trp Leu Gln Gly Glu Ile Phe
65           70           75           80

Thr Cys Ser Val Val His Glu Ala Leu His Asn His His Thr Gln Lys
          85           90           95

Asn Leu Ser Arg Ser Pro Gly Lys
          100
    
```

ES 2 664 095 T3

<210> 9  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

5 <400> 9

```

Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu
1          5          10          15

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
          20          25          30

His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
          35          40          45

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr
          50          55          60

Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn
65          70          75          80

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro
          85          90          95

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro
          100          105
    
```

<210> 10  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

10 <400> 10

```

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

Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser
          20          25          30

His Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu
          35          40          45

Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr
          50          55          60

Phe Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn
65          70          75          80

Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro
          85          90          95

Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro
          100          105
    
```

ES 2 664 095 T3

<210> 11  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

5 <400> 11

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

<210> 12  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Homo Sapiens

10 <400> 12

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

<210> 13  
 <211> 108

ES 2 664 095 T3

<212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 13

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

5 <210> 14  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus  
 <400> 14

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

10 <210> 15

ES 2 664 095 T3

<211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

<400> 15

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

5

<210> 16  
 <211> 108  
 <212> PRT  
 <213> Mus musculus

10 <400> 16

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

ES 2 664 095 T3

Gly Lys Glu Phe Lys Cys Lys Val Asn Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro  
85 90 95

Ile Glu Arg Thr Ile Ser Lys Pro Lys Gly Arg Ala  
100 105

- 5 <210> 17  
<211> 238  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Construcción sintética  
  
<400> 17



ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Asn Val Thr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 18  
 <211> 717

ES 2 664 095 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

5 <400> 18

```

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttctctga cagggagcca ggctcgcat      60
catcatcacc atcacggcgg gggaccgtca gtcttctctt tcccccaaa acccaaggac      120
accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tgggtggacgt gagccacgaa      180
gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca      240
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg tacogtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg      300
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacia agccctccca      360
gcccccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc aaacgtgacc      420
accctgcccc catcccggga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc      480
aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagAAC      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttctct ctatagcaag      600
ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggAACgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga      717
  
```

<210> 19  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 19

```

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser
  1                   5                   10                   15
  
```

ES 2 664 095 T3

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 20  
 <211> 717  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética

ES 2 664 095 T3

<400> 20

|   |     |
|---|-----|
| atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctotg gtcttcctga cagggagcca ggctoggc  | 60  |
| catcatcacc atcacggcgg gggaccgtca gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac  | 120 |
| accctcatga tctcccgac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtagcgt gagccacgaa   | 180 |
| gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca | 240 |
| aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg | 300 |
| caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcagg tctccaaca agccctocca   | 360 |
| gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac   | 420 |
| accctgccc catcccggga ggagatgacc aagaaccagg tcaacctgac ctgcctggtc  | 480 |
| aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gaggggaga gcaatgggca gccggagaac  | 540 |
| aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggt ccttcttct ctatagcaag   | 600 |
| ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat | 660 |
| gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga    | 717 |

<210> 21

<211> 238

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 21

5

ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Asn Cys Thr Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 22  
 <211> 717

ES 2 664 095 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

5 <400> 22

```

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttcctga cagggagcca ggctcggcat      60
catcatcacc atcacggcgg gggaccgtca gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac      120
accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtgacgt gagccacgaa      180
gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca      240
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg      300
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacia agccctcca      360
gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac      420
accctgcccc catcccggga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgaa ctgcaccgtc      480
aaaggcttct atcccagcga catcgcctgt gagtgggaga gcaatgggca gccggagAAC      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct ctatagcaag      600

ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggAACgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccacta cagcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga      717
    
```

<210> 23  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 23

ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Asn Val  
 145 150 155 160

Thr Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 24  
 <211> 717  
 <212> ADN

ES 2 664 095 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 24

```

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttctctga cagggagcca ggctcggcat      60
catcatcacc atcacggcggg gggaccgtca gtcttctctct tcccccaaaa acccaaggac      120
accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtgacgt gagccacgaa      180
gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca      240
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtct caccgtcctg      300
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctcca      360
gccccatcg agaaaaccat ctocaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac      420
accctgcccc catcccgga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcaacgtc      480
accggcttct atcccagcga catgccctg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacgget ctttcttct ctatagcaag      600
ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag ggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccaacta cacgcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga      717

```

5

<210> 25

<211> 238

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 25

```

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser
1           5           10           15

```

```

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe
          20           25           30

```



ES 2 664 095 T3

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Thr Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 26  
 <211> 717  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 26

ES 2 664 095 T3

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttcctga cagggagcca ggctcggcat 60  
 catcatcacc atcacggcgg gggaccgtca gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac 120  
 accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgctggg tgggtggacgt gagccacgaa 180  
 gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 240  
 aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 300  
 caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctcca meta agccctccca 360  
 gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 420  
 accctgcccc catcccggga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 480  
 aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 540  
 aactacacca ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct ctatagcaag 600  
 ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 660  
 gaggtctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga 717

<210> 27  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética  
 <400> 27

ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asn  
 180 185 190

Gly Thr Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

ES 2 664 095 T3

<211> 717  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 28

```

atgaaagctg tggtagctggc cgtggctctg gtcttcctga caggagcca ggctcggcat      60
catcatcacc atcacggcgg gggaccgtca gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac      120
accctcatga tctcccgac ccctgaggtc acatgctgg tggtagcgt gagccacgaa      180
gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca      240
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg tacctgtgtg tcagcgtcct caccgtcctg      300
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaaca agccctocca      360
gccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac      420
accctgcccc catcccgga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc      480
aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagggggaga gcaatgggca gccggagAAC      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccaacggca cttcttcct ctatagcaag      600
ctcacctgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga      717
    
```

10 <210> 29  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 29

ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Asn Leu Thr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 30  
 <211> 717

ES 2 664 095 T3

<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Construcción sintética

5 <400> 30

```

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttcctga cagggagcca ggctcggcat      60
catcatcacc atcacggcggg gggaccgtca gtcttcctct tcccccaaaa acccaaggac      120
acctcatga tctcccgac ccctgaggtc acatgcgtgg tggaggacgt gagccacgaa      180
gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca      240
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg      300
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agcctccca      360
gccccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac      420
acctgcccc catcccgga ggagatgacc agaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc      480
aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggt ccttcaacct caccagcaag      600
ctcacgctgg acaagagcag gtggcagcag ggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga      717
    
```

<210> 31  
<211> 238  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10

<220>  
<223> Construcción sintética

<400> 31

```

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser
 1                   5                   10                   15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe
                20                   25                   30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
          35                   40                   45
    
```

ES 2 664 095 T3

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
225 230 235

<210> 32  
<211> 717  
<212> ADN  
5 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Construcción sintética

<400> 32

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttcctga caggagcca ggctcggcat 60  
catcatcacc atcacggcgg gggaccgtca gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac 120

ES 2 664 095 T3

accctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tggaggacgt gagccacgaa 180  
gaccctgagg tcaagttcaa ctggtagctg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 240  
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 300  
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca 360  
gcccccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 420  
accctgcccc catcccggga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 480  
aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 540  
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggt ccttcttct caacagcacc 600  
ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag ggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 660  
gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga 717

<210> 33  
<211> 238  
<212> PRT  
5 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Construcción sintética  
<400> 33

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Lys | Ala | Val | Val | Leu | Ala | Val | Ala | Leu | Val | Phe | Leu | Thr | Gly | Ser |
| 1   |     |     | 5   |     |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Gln | Ala | Arg | His | His | His | His | His | His | Gly | Gly | Gly | Pro | Ser | Val | Phe |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Leu | Phe | Pro | Pro | Lys | Pro | Lys | Asp | Thr | Leu | Met | Ile | Ser | Arg | Thr | Pro |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Glu | Val | Thr | Cys | Val | Val | Val | Asp | Val | Ser | His | Glu | Asp | Pro | Glu | Val |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Lys | Phe | Asn | Trp | Tyr | Val | Asp | Gly | Val | Glu | Val | His | Asn | Ala | Lys | Thr |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Lys | Pro | Arg | Glu | Glu | Gln | Tyr | Asn | Ser | Thr | Tyr | Arg | Val | Val | Ser | Val |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Leu | Thr | Val | Leu | His | Gln | Asp | Trp | Leu | Asn | Gly | Lys | Glu | Tyr | Lys | Cys |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Lys | Val | Ser | Asn | Lys | Ala | Leu | Pro | Ala | Pro | Ile | Glu | Lys | Thr | Ile | Ser |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |



ES 2 664 095 T3

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asn Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 34  
 <211> 717  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 34

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttcctga cagggagcca ggctcggcac 60  
 catcatcacc atcacggcgg gggaccgtca gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac 120  
 accctcatga tctcccggac cctgaggtc acatgcgtgg tggtagcgt gagccacgaa 180  
 gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg agtgcataa tgccaagaca 240  
 aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 300  
 caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca 360  
 gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 420  
 accctgcccc catcccggga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 480  
 aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 540  
 aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct ctatagcaac 600  
 ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaaactct tctcatgctc cgtgatgcat 660  
 gaggtctctgc acaaccacta cagcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga 717

<210> 35  
<211> 238  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5 <220>  
<223> Construcción sintética  
  
<400> 35

ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Asn Val Thr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 225 230 235

<210> 36  
 <211> 717  
 <212> ADN

ES 2 664 095 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 36

```

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttctctga cagggagcca ggctcggcat      60
catcatcacc atcacggcgg gggaccatca gtcttctctgt tcccccaaa acccaaggac      120
actctcatga tctcccggac ccctgaggtc acgtgcgtgg tggtagcgt gagccaggaa      180
gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca      240
aagccgcggg aggagcagtt caacagcacg tacctgtgtg tcagcgtcct caccgtcctg      300
caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtgaagg tctccaacaa aggcctcccg      360
tcctccatcg agaaaacat ctocaaagcc aaaggtcagc ccgagagacc aaacgtgacc      420
acctgcccc catcccagga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc      480
aaaggcttct accccagcga catgccctg gagtgggaga gcaatgggca gccggagAAC      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct ctacagcagg      600
ctaaccgtgg acaagagcag gtggcaggag ggaatgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccacta cacacagaag agcctctccc tgtctctggg taaatga      717

```

5

<210> 37

<211> 238

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 37

```

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser
 1           5           10           15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe
      20           25           30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
      35           40           45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val

```



ES 2 664 095 T3

```

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttcctga caggagcca ggctcggcat      60
catcatcacc atcacggcgg gggaccatca gtcttcctgt tcccccaaa acccaaggac      120
actctcatga tctcccggac cctgaggtc acgtgcgtgg tggtagcgt gagccaggaa      180
gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca      240

aagccgcggg aggagcagtt caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg      300
caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtgcagg tctccaacia aggcctcccg      360
tcctccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaaggtcagc cccgagagcc acaggtgtac      420
accctgcccc catcccagga ggagatgacc aagaaccagg tcaacctgac ctgcctggtc      480
aaaggcttct accccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct ctacagcagg      600
ctaaccgtgg acaagagcag gtggcaggag gggaatgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccacta cacacagaag agcctctccc tgtctctggg taaatga      717

```

<210> 39  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética  
 <400> 39

ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Asn Cys Thr Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 225 230 235

<210> 40  
 <211> 717  
 <212> ADN

ES 2 664 095 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 40

|   |     |
|---|-----|
| atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttctctga cagggagcca ggctcggcat | 60  |
| catcatcacc atcacggcgg gggaccatca gtcttctctgt tcccccaaa acccaaggac   | 120 |
| actctcatga tctcccggac ccctgaggtc acgtgcgtgg tggtagcgt gagccaggaa    | 180 |
| gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca   | 240 |
| aagccgcggg aggagcagtt caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg   | 300 |
| caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaaca aggctcccg     | 360 |
| tcctccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaaggtcagc cccgagagcc acaggtgtac    | 420 |
| accctgcccc catcccagga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgaa ctgcaccgtc   | 480 |
| aaaggcttct accccagcga catgcctgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac   | 540 |
| aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggt ccttcttct ctacagcagg     | 600 |
| ctaaccgtgg acaagagcag gtggcaggag gggaatgtct tctcatgctc cgtgatgcat   | 660 |
| gaggctctgc acaaccacta cacacagaag agcctctccc tgtctctggg taaatga      | 717 |

5

<210> 41

<211> 238

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 41



ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Asn Val  
 145 150 155 160

Thr Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys

225

230

235

<210> 42  
 <211> 717  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 664 095 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 42

```

atgaaagctg tggtgctggc cgtggctctg gtcttctctga cagggagcca ggctcggcat      60
catcatcacc atcacggcgg gggaccatca gtcttctctgt tcccccaaa acccaaggac      120
actctcatga tctcccggac ccctgaggtc acgtgcgtgg tggtaggacgt gagccaggaa      180
gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca      240
aagcccgggg aggagcagtt caacagcacg tacctgtgtg tcagcgtcct cacctcctg      300
caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtgcgaagg tctccaacaa aggcctcccg      360
tcctccatcg agaaaaccat ctccaaagcc aaaggtcagc cccgagagcc acaggtgtac      420
acctgcccc catcccagga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcaacgtc      480
accggttct accccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgaaggct ccttcttctc ctacagcagg      600
ctaaccgtgg acaagagcag gtggcaggag ggaatgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccacta cacacagaag agcctctccc tgtctctggg taaatga      717
    
```

5

<210> 43

<211> 238

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

10 <223> Construcción sintética

<400> 43

```

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser
 1           5           10           15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe
          20           25           30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
          35           40           45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
 50           55           60
    
```

ES 2 664 095 T3

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
130 135 140

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Thr Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
195 200 205

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
225 230 235

<210> 44

<211> 717

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 44

ES 2 664 095 T3

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttcctga cagggagcca ggctcggcat 60  
catcatcacc atcacggcgg gggaccatca gtcttcctgt tcccccaaa acccaaggac 120  
actctcatga tctcccgac ccctgaggtc acgtgcgtgg tgggtggacgt gagccaggaa 180  
gacccccagg tccagttcaa ctggtacgtg gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 240  
aagccgcggg aggagcagtt caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg 300  
caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtgcagg tctccaaca aggctcccg 360  
tcctccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaaggtcagc cccgagagcc acaggtgtac 420  
accctgcccc catcccagga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc 480  
aaaggcttct accccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 540  
aactacacca ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct ctacagcagg 600  
ctaaccgtgg acaagagcag gtggcaggag gggaatgtct tctcatgctc cgtgatgcat 660  
gaggctctgc acaaccacta cacacagaag agcctctccc tgtctctggg taaatga 717

<210> 45  
<211> 238  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Construcción sintética  
<400> 45

ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val  
50 55 60

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
130 135 140

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asn  
180 185 190

Gly Thr Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
195 200 205

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
225 230 235

<210> 46  
<211> 717  
<212> ADN

ES 2 664 095 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 46

|            |            |            |            |            |            |    |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|----|-----|
| atgaaagctg | tggtgctggc | cgtggctctg | gtcttcctga | cagggagcca | ggctcggc   | at | 60  |
| catcatcacc | atcaogggcg | gggaccatca | gtcttcctgt | tcccccaaa  | accaaggac  | at | 120 |
| actctcatga | tctcccgac  | cctgaggtc  | acgtgctgg  | tggtggacgt | gagccaggaa | at | 180 |
| gaccccgagg | tccagttcaa | ctggtacgtg | gatggcgtgg | aggtgcataa | tgccaagaca | at | 240 |
| aagccgcggg | aggagcagtt | caacagcacg | taccgtgtgg | tcagcgtcct | caccgtcctg | at | 300 |
| caccaggact | ggctgaacgg | caaggagtac | aagtgcaagg | tctccaacaa | aggcctcccg | at | 360 |
| tcctccatcg | agaaaacat  | ctccaaagcc | aaaggtcagc | cccgagagcc | acaggtgtac | at | 420 |
| accctgcccc | catcccagga | ggagatgacc | aagaaccagg | tcagcctgac | ctgcctggtc | at | 480 |
| aaaggcttct | accccagcga | catcgccgtg | gagtgggaga | gcaatgggca | gccggagaac | at | 540 |
| aactacaaga | ccacgcctcc | cgtgctggac | tccaacggca | ccttcttctc | ctacagcagg | at | 600 |
| ctaaccgtgg | acaagagcag | gtggcaggag | gggaatgtct | tctcatgctc | cgtgatgeat | at | 660 |
| gaggctctgc | acaaccacta | cacacagaag | agcctctccc | tgtctctggg | taaataga   | at | 717 |

5

<210> 47

<211> 238

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 47

ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Asn Leu Thr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
 225 230 235

<211> 717  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 48

```

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttctctga caggagacca ggctcggcat      60
catcatcacc atcacggcgg gggaccatca gtcttctctgt tcccccaaa acccaaggac      120
actctcatga tctcccggac cctgaggtc acgtgctgtg tgggtggacgt gagccaggaa      180
gaccccgagg tccagttcaa ctggtactgt gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca      240
aagccgcggg aggagcagtt caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg      300
caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaaca aggcctcccg      360
tcctccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaaggtcagc cccgagagcc acaggtgtac      420
acctgcccc catcccagga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc      480
aaaggcttct accccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gcoggagaac      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcaacct caccagcagg      600
ctaaccgtgg acaagagcag gtggcaggag ggaatgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccacta cacacagaag agcctctccc tgtctctggg taaatga      717
    
```

10 <210> 49  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 49

```

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser
1           5           10           15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe
                20           25           30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro
                35           40           45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val
50           55           60

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr
65           70           75           80
    
```

15



ES 2 664 095 T3

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
130 135 140

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
195 200 205

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
225 230 235

<210> 50

<211> 717

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 50

ES 2 664 095 T3

```

atgaaagctg tggtagctggc cgtggctctg gtcttcctga cagggagcca ggtcggcat      60
catcatcacc atcacggcgg gggaccatca gtcttcctgt tcccccaaa acccaaggac      120
actctcatga tctcccgac ccctgaggtc acgtgcgtgg tggtagcgt gagccaggaa      180
gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca      240
aagccgcggg aggagcagtt caacagcacg tacctgtgtg tcagcgtcct caccgtcctg      300
caccaggact ggtgaacgg caaggagtac aagtgaagg tctccaaca aggctcccg      360
tctccatcg agaaaacct ctcaaagcc aaagtcagc ccgagagcc acaggtgtac      420

accctgcccc catcccagga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc      480
aaaggcttct accccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct caacagcacc      600
ctaaccgtgg acaagagcag gtggcaggag gggaatgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccacta cacacagaag agcctctccc tgtctctggg taaatga      717

```

<210> 51  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética  
 <400> 51

ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val  
50 55 60

Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
130 135 140

Ser Gln Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val  
145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Asn Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
195 200 205

Gln Glu Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys  
225 230 235

<210> 52  
<211> 717  
<212> ADN

ES 2 664 095 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 52

|  |     |
|--|-----|
| atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttcctga cagggagcca ggctcggcat | 60  |
| catcatcacc atcacggcgg gggaccatca gtcttcctgt tcccccaaa acccaaggac   | 120 |
| actctcatga tctcccggac cctgaggtc acgtgcgtgg tggtagcgt gagccaggaa    | 180 |
| gaccccgagg tccagttcaa ctggtacgtg gatggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca  | 240 |
| aagccgcggg aggagcagtt caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg  | 300 |
| caccaggact ggctgaacgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacia aggcctcccg  | 360 |
| tcctccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaaggtcagc cccgagagcc acaggtgtac   | 420 |
| accctgcccc catcccagga ggagatgacc aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc  | 480 |
| aaagcttct accccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac   | 540 |
| aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggt ccttcttct ctacagcaac    | 600 |
| ctaaccgtgg acaagagcag gtggcaggag gggaatgtct tctcatgctc cgtgatgcat  | 660 |
| gaggctctgc acaaccacta cacacagaag agcctctccc tgtctctggg taaatga     | 717 |

5

<210> 53

<211> 238

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 53

ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn Leu Thr Cys Asn Val  
 145 150 155 160

Thr Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 54  
 <211> 717  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 664 095 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 54

|            |            |            |            |             |             |     |
|------------|------------|------------|------------|-------------|-------------|-----|
| atgaaagctg | tggtgctggc | cgtggctctg | gtcttcctga | caggagcca   | ggctcgcat   | 60  |
| catcatcacc | atcacggcgg | gggaccgtca | gtcttcctct | tcccccaaa   | acccaaggac  | 120 |
| accctcatga | tctcccggac | ccctgaggtc | acatgcgtgg | tggtggacgt  | gagccacgaa  | 180 |
| gaccctgagg | tcaagttcaa | ctggtaoatg | gacggogtgg | aggtgcataa  | tgccaagaca  | 240 |
| aagccgcggg | aggagcagta | caacagcaog | taccgtgtgg | tcagogtcoct | cacogtcoctg | 300 |
| caccaggact | ggctgaatgg | caaggagtac | aagtgcaagg | tctccaacaa  | agccctccca  | 360 |
| gccccatcg  | agaaaacat  | ctccaagcc  | aaagggcagc | cccgagaacc  | acaggtgtac  | 420 |
| accctgcccc | catcccggga | ggagatgacc | aagaaccagg | tcaacctgac  | ctgcaacgtc  | 480 |
| accggcttct | atcccagcga | catcgccgtg | gagtgggaga | gcaatgggca  | gccggagaac  | 540 |
| aactacaaga | ccaagcctcc | cgtgctggac | tccgacggct | ccttcttcoct | ctatagcaag  | 600 |
| ctcaccgtgg | acaagagcag | gtggcagcag | gggaacgtct | tctcatgctc  | cgtgatgcat  | 660 |
| gaggctctgc | acaaccacta | cacgcagaag | agcctctccc | tgtccccggg  | taaatga     | 717 |

5

<210> 55

<211> 238

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 55

ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Asn Leu Thr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 56  
 <211> 717  
 <212> ADN

ES 2 664 095 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 56

|            |            |            |            |            |             |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|-------------|-----|
| atgaaagctg | tggtgctggc | cgtggctctg | gtcttcctga | cagggagcca | ggctcggcat  | 60  |
| catcatcacc | atcacggcgg | gggacogtca | gtcttcctct | tcccccaaa  | acccaaggac  | 120 |
| accctcatga | tctcccggac | cctgaggtc  | acatgcgtgg | tggtggacgt | gagccacgaa  | 180 |
| gaccctgagg | tcaagttcaa | ctggtacgtg | gacggcgtgg | aggtgcataa | tgccaagaca  | 240 |
| aagccgcggg | aggagcagta | caacagcacg | taccgtgtgg | tcagcgtcct | caccgtcctg  | 300 |
| caccaggact | ggctgaatgg | caaggagtac | aagtgcaagg | tctccaacaa | agccctcca   | 360 |
| gcccccatcg | agaaaaccat | ctccaaagcc | aaagggcagc | cccgagaacc | acaggtgtac  | 420 |
| accctgcccc | catcccggga | ggagatgacc | aagaaccagg | tcaacctgac | ctgcctggtc  | 480 |
| aaaggcttct | atcccagcga | catcgccgtg | gagtgggaga | gcaatgggca | gccggagaac  | 540 |
| aactacaaga | ccacgcctcc | cgtgctggac | tccgacggct | ccttcaacct | caccagcaag  | 600 |
| ctcaccgtgg | acaagagcag | gtggcagcag | gggaacgtct | tctcatgctc | cgatgatgcat | 660 |
| gaggctctgc | acaaccacta | cacgcagaag | agcctctccc | tgtccccggg | taaatga     | 717 |

5

<210> 57

<211> 238

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 57



ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 58  
 <211> 717

ES 2 664 095 T3

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

5 <400> 58

```

atgaaagctg tggtgctggc cgtggctctg gtcttcctga cagggagcca ggctcggcat      60
catcatcacc atcacggcgg gggaccgtca gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac      120
accctcatga tctcccgac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtgacgt gagccacgaa      180
gaccctgagg tcaagttaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca      240
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg      300
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca      360
gccccatcg agaaaaccat ctcaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac      420
accctgcccc catcccggga ggagatgacc aagaaccagg tcaacctgac ctgcctggtc      480
aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct caacagcacc      600
ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag ggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccaacta cagcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga      717
  
```

<210> 59  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 59

```

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser
1           5           10           15
  
```

ES 2 664 095 T3

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Asn Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 60  
 <211> 717  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética

ES 2 664 095 T3

<400> 60

|            |            |            |            |            |            |     |
|------------|------------|------------|------------|------------|------------|-----|
| atgaaagctg | tggtgctggc | cgtggctctg | gttttcctga | cagggagcca | ggctcggcat | 60  |
| catcatcacc | atcacggcgg | gggaccgtca | gttttcctct | tcccccaaa  | accaaggac  | 120 |
| accctcatga | tctcccgga  | ccctaactgc | acatgcgtgg | tggtggacgt | gagccacgaa | 180 |
| gaccctgagg | tcaagttcaa | ctggtactgt | gacggcgtgg | aggtgcataa | tgccaagaca | 240 |
| aagccgcggg | aggagcagta | caacagcacg | taccgtgtgg | tcagcgtcct | caccgtcctg | 300 |
| caccaggact | ggctgaatgg | caaggagtac | aagtgcaagg | tctccaacaa | agccctccca | 360 |
| gccccatcg  | agaaaacat  | ctccaaagcc | aaagggcagc | cccgagaacc | acaggtgtac | 420 |
| accctgcccc | catcccggga | ggagatgacc | aagaaccagg | tcaacctgac | ctgcctggtc | 480 |
| aaaggcttct | atcccagoga | catcgccgtg | gagtgggaga | gcaatgggca | gccggagaac | 540 |
| aactacaaga | ccacgcctcc | cgtgctggac | tccgacggct | ccttcttct  | caacagcacc | 600 |
| ctcaccgtgg | acaagagcag | gtggcagcag | gggaacgtct | tctcatgctc | cgtgatgcat | 660 |
| gaggctctgc | acaaccacta | cacgcagaag | agcctctccc | tgtccccggg | taaata     | 717 |

<210> 61

<211> 238

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 61

5

ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Asn Cys Thr Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 62

ES 2 664 095 T3

<211> 717  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 62

```

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttcctga cagggagcca ggctcggcat      60
catcatcacc atcacggcgg gggaccgtca gtcttcctct tcccccaaa acccaaggac      120
accctcatga tctcccggac ccctgaggtc aactgcaccg tggtagacgt gagccacgaa      180
gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca      240
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg      300
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcagg tctccaacaa agccctcca      360
gcccccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac      420
accctgcccc catcccggga ggagatgacc aagaaccagg tcaacctgac ctgcttggtc      480
aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttctt caacagcacc      600

ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga      717
    
```

10 <210> 63  
 <211> 238  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 63

ES 2 664 095 T3

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser  
 1 5 10 15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 20 25 30

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Thr Thr  
 65 70 75 80

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 85 90 95

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190

Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 64  
 <211> 717  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 664 095 T3

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 64

```

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttctctga cagggagcca ggctcggcat      60
catcatcacc atcacggcggg gggaccgtca gtcttctctct tcccccaaaa acccaaggac      120
accctcatga tctcccgac ccctgaggtc acatgogtgg tggtagacgt gagccacgaa      180
gaccctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggogtgg aggtgcataa tgccaccaca      240
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcgtcct caccgtcctg      300
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctcca      360
gcccccatcg agaaaaccat ctccaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac      420
accctgcccc catcccgga ggagatgacc aagaaccagg tcaacctgac ctgcctggtc      480
aaaggcttct atccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct caacagcacc      600
ctcacctggg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga      717
    
```

5

<210> 65

<211> 238

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 65

```

Met Lys Ala Val Val Leu Ala Val Ala Leu Val Phe Leu Thr Gly Ser
1           5           10           15

Gln Ala Arg His His His His His His Gly Gly Gly Pro Ser Val Phe
                20           25           30
    
```



ES 2 664 095 T3

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 35 40 45  
 Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 50 55 60  
 Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 65 70 75 80  
 Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Asn  
 85 90 95  
 Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 100 105 110  
 Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 115 120 125  
 Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 130 135 140  
 Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn Leu Thr Cys Leu Val  
 145 150 155 160  
 Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 165 170 175  
 Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 180 185 190  
 Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 195 200 205  
 Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 210 215 220  
 Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 225 230 235

<210> 66

<211> 717

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 66

ES 2 664 095 T3

```

atgaaagctg tgggtgctggc cgtggctctg gtcttctctga cagggagcca ggctcggcat      60
catcatcacc atcacggcgg gggaccgtca gtcttctctct tcccccaaaa acccaaggac      120
accctcatga tctcccgac ccctgaggtc acatgcgtgg tggtaggacgt gagccacgaa      180
gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca      240
aagccgcggg aggagcagta caacagcacg taccgtgtgg tcagcaacct caccgtctctg      300
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctccca      360
gccccatcg agaaaacat ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac      420
accctgcccc catcccgga ggagatgacc aagaaccagg tcaacctgac ctgcctggtc      480
aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac      540
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct caacagcacc      600
ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag ggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat      660
gaggctctgc acaaccacta cagcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga      717

```

<210> 67  
 <211> 463  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética  
 <400> 67

```

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly
 1           5           10           15

Ala His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln
 20           25           30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe
 35           40           45

Ser Asn Tyr Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Thr Gly Lys Gly Leu
 50           55           60

Glu Trp Val Ser Ala Ile Gly Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly
 65           70           75           80

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser
 85           90           95

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr
 100          105          110

```

ES 2 664 095 T3

Tyr Cys Ala Arg Glu Lys Ser Ser Thr Ser Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
 115 120 125  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 130 135 140  
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala  
 145 150 155 160  
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 165 170 175  
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 180 185 190  
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 195 200 205  
 Pro Ser Ser Asn Phe Gly Thr Gln Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His  
 210 215 220  
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Thr Val Glu Arg Lys Cys Cys  
 225 230 235 240  
 Val Glu Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Pro Val Ala Gly Pro Ser Val  
 245 250 255  
 Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 260 265 270  
 Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 275 280 285  
 Val Gln Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 290 295 300  
 Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Phe Arg Val Val Ser  
 305 310 315 320  
 Val Leu Thr Val Val His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 325 330 335  
 Cys Lys Val Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 340 345 350  
 Ser Lys Thr Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 355 360 365

ES 2 664 095 T3

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu  
 370 375 380

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 385 390 395 400

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Met Leu Asp Ser  
 405 410 415

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 420 425 430

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 435 440 445

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 450 455 460

<210> 68

<211> 1404

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 68

ES 2 664 095 T3

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcaactccgag 60  
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtacagcctg gggggtcctt gagactctcc 120  
 tgtgcagcct ctggattcac cttcagtaac tacgacatgt actgggtccg ccaaactaca 180  
 ggaaaaggtc tggagtgggt ctcagctatt ggtactgctg gtgacacata ctatccaggc 240  
 tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gaaaatgcc aagaactcctt gtatcttcaa 300  
 atgaacagcc tgagagccgg ggacacggct gtgtattact gtgcaagaga gaagtctagc 360  
 acctggcct ttgactactg gggccaggga acctgggtca cagtctctc agcgtcgacc 420  
 aagggcccat cggctctccc cctggcacc tctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 480  
 gccctggget gcctggtaaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca 540  
 ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtctc aggactctac 600  
 tcctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttg gcaccagac ctacatctgc 660  
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 720  
 gacaaaactc acacatgcc acctggcca gcacctgaac tctgggggg accgtcagtc 780  
 ttcctcttc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840  
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900  
  
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960  
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020  
 tgcaaggctt ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaacctctc caaagccaaa 1080  
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggagga gatgaccaag 1140  
 aaccaggta gcctgacctg cctggtaaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctggag 1200  
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctccgt gctggactcc 1260  
 gacggctcct tcttctcta tagcaagctc acctggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320  
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380  
 ctctccctgt ccccggtaa atga 1404

<210> 69  
 <211> 231  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 69

ES 2 664 095 T3

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15

Ala His Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Val  
 20 25 30

Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Gln Ala Gly Gln Asp Ile  
 35 40 45

Arg Asn Tyr Leu Asn Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys  
 50 55 60

Leu Leu Ile Tyr Asp Ala Ser Asn Leu Glu Thr Gly Val Pro Ser Arg  
 65 70 75 80

Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Ala Phe Thr Phe Thr Ile Ser Ser  
 85 90 95

Leu Gln Pro Glu Asp Ile Ala Thr Tyr Tyr Cys Gln Gln Tyr Asp Asn  
 100 105 110

Leu Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala  
 115 120 125

Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser  
 130 135 140

Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu  
 145 150 155 160

Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser  
 165 170 175

Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu  
 180 185 190

Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val  
 195 200 205

Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys  
 210 215 220

Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys  
 225 230

<210> 70  
 <211> 910

<212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

5 <400> 70

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gactccgac      60
atccagatga cccagtctcc atcctccctg tctgtatctg tgggagacag agtcaccatc      120
acttgccagg cgggtcagga cattcgcaac tatttaaatt ggtatcagca gaaaccaggg      180
aaagccccta aactcctgat ctacgatgca tccaatttgg aaacaggggt cccatcaagg      240
ttcagtggaa gtggatctgg gacagctttt actttcacca tcagcagcct gcagcctgaa      300
gatattgcaa catattactg tcaacagtat gataatctca cttttggcca ggggacaaa      360
ctggaaatca aacgtgagta gaataactct agaggaatag ggaagctagg aagaaactca      420
aaacatcaag attttaaata cgcttcttgg tctccttgcct ataattatct gggataagca      480
tgctgttttc tgtctgtccc taacatgccc tgtgattatc cgcaaacaac acaccaagg      540
gcagaacttt gttacttaaa caccatcctg tttgcttctt tcctcaggaa ctgtggctgc      600
accatctgtc ttcacttccc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt      660
tgtgtgctctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa      720
cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac      780
ctacagcctc agcagcaccg tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta      840

cgcctgcgaa gtcaccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg      900
agagtgttag                                     910
    
```

<210> 71  
 <211> 467  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 71

ES 2 664 095 T3

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15

Ala His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln  
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
 35 40 45

Ser Asn Tyr Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Thr Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Val Ser Ala Ile Gly Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly  
 65 70 75 80

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser  
 85 90 95

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Arg Glu Lys Ser Ser Thr Ser Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
 115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 180 185 190



ES 2 664 095 T3

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn  
 370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val  
 420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 435 440 445

ES 2 664 095 T3

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 450 455 460

Pro Gly Lys  
 465

5 <210> 72  
 <211> 1404  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 72

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacagggcg gcactccgag      60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtacagcctg gggggtccct gagactctcc      120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtaac tacgacatgt actgggtccg ccaaactaca      180
ggaaaaggtc tggagtgggt ctcagctatt ggtactgctg gtgacacata ctatccaggc      240
tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gaaaatgcc aagaactcctt gtatcttcaa      300
atgaacagcc tgagagccgg ggacacggct gtgtattact gtgcaagaga gaagtctagc      360
acctcggcct ttgactactg gggccaggga accctggtca ccgtctctc agcctccacc      420
aagggccoga gcgtgtttcc gctggcacog agcagcaaaa gcaccagcgg tggcacagca      480
gcactggggt gtctggtgaa agattatctt ccggaaccgg ttacagttag ctggaatagc      540
ggtgccctga ccagcgggtg tcataccttt ccggcagttc tgcagagcag cggctctgtat      600
agcctgteta gcgttggtac cgttcogagc agcagcctgg gcaccagac ctatatttgc      660
aatgtgaatc ataaaccgag caataccaaa gtggataaaa aagtggagcc taagagctgt      720
gacaaaactc acacaggtgg aggcgggtcc ggtggaggcg ggtccggggg accgtcagtc      780
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca      840
tgogtggggg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac      900
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtataa cagcacgtac      960
cgtgtgggtc gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag     1020
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa     1080
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacaac ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag     1140
aaccaggtca acctgacctg cctgggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag     1200
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccggt gctggactcc     1260
gacggctcct tcttctcaa cagcaacctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg     1320
    
```

aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380  
 ctctccctgt ccccggttaa atga 1404

- 5  
 <210> 73  
 <211> 467  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Construcción sintética  
 <400> 73

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15  
 Ala His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln  
 20 25 30  
 Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
 35 40 45  
 Ser Asn Tyr Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Thr Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Val Ser Ala Ile Gly Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly  
 65 70 75 80  
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser  
 85 90 95  
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110  
 Tyr Cys Ala Arg Glu Lys Ser Ser Thr Ser Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
 115 120 125  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 130 135 140  
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 145 150 155 160  
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 165 170 175  
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 180 185 190

ES 2 664 095 T3

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 195 200 205  
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 210 215 220  
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 225 230 235 240  
 Asp Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Ser Gly  
 245 250 255  
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 260 265 270  
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 275 280 285  
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 290 295 300  
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 305 310 315 320  
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 325 330 335  
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 340 345 350  
 Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 355 360 365  
 Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn  
 370 375 380  
 Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 385 390 395 400  
 Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 405 410 415  
 Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val  
 420 425 430  
 Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Leu  
 435 440 445

His Glu Ala Leu His Ser His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
450 455 460

Pro Gly Lys  
465

- <210> 74
- <211> 1404
- <212> ADN
- 5 <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Construcción sintética
- <400> 74

ES 2 664 095 T3

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggegc gcactccgag 60  
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtacagcctg gggggtccct gagactctcc 120  
 tgtgcagcct ctggattcac cttcagtaac tacgacatgt actgggtccg ccaaactaca 180  
 ggaaaaggtc tggagtgggt ctgagctatt ggtactgctg gtgacacata ctatccaggc 240  
 tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gaaaatgcca agaactcctt gtatcttcaa 300  
 atgaacagcc tgagagccgg ggacacggct gtgtattact gtgcaagaga gaagtctagc 360  
 acctcggcct ttgactactg gggccagga accctggtca ccgtctctc agcctccacc 420  
 aagggcccgga gcgtgtttcc gctggcaccg agcagcaaaa gcaccagcgg tggcacagca 480  
 gcactgggtt gtctggtgaa agattathtt ccggaaccgg ttacagttag ctggaatagc 540  
 ggtgccctga ccagcgggtg tcataccttt ccggcagttc tgcagagcag cggctctgat 600  
 agcctgtcta gcgttgttac cgttccgagc agcagcctgg gcaccacagac ctatatttgc 660  
 aatgtgaatc ataaaccgag caatacctaaa gtggataaaa aagtggagcc taagagctgt 720  
 gacaaaactc acacaggtgg aggcgggtcc ggtggaggcg ggtccggggg accgtcagtc 780  
 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840  
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900  
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960  
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020  
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080  
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggagga gatgaccaag 1140  
 aaccaggtca acctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctggag 1200  
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc 1260  
 gacggctcct tcttctcaa cagcaccctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320  
 aacgtcttct catgctccgt gctgcatgag gctctgcaca gccactacac gcagaagagc 1380  
  
 ctctccctgt ccccggttaa atga 1404

<210> 75  
 <211> 467  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 75

ES 2 664 095 T3

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
1 5 10 15

Ala His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln  
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
35 40 45

Ser Asn Tyr Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Thr Gly Lys Gly Leu  
50 55 60

Glu Trp Val Ser Ala Ile Gly Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly  
65 70 75 80

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser  
85 90 95

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr  
100 105 110

Tyr Cys Ala Arg Glu Lys Ser Ser Thr Ser Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val





ES 2 664 095 T3

His Glu Ala Leu Ala Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
450 455 460

Pro Gly Lys  
465

- 5
- <210> 76
  - <211> 1404
  - <212> ADN
  - <213> Secuencia artificial
  
  - <220>
  - <223> Construcción sintética
  
  - <400> 76

ES 2 664 095 T3

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactccgag 60  
 gtgcagctgg tggagtctgg gggaggttg gtacagcctg gggggtcctt gagactctcc 120  
 tgtgcagcct ctggattcac cttcagtaac tacgacatgt actgggtccg ccaactaca 180  
 ggaaaaggtc tggagtgggt ctcagctatt ggtactgctg gtgacacata ctatccaggc 240  
 tccgtgaagg gccgattcac catctocaga gaaaatgcca agaactcctt gtatcttcaa 300  
 atgaacagcc tgagagccgg ggacacggct gtgtattact gtgcaagaga gaagtctagc 360  
 acctcggcct ttgactactg gggccaggga acctcggcca cctctcctc agcctccacc 420  
 aagggcccgga gcgtgtttcc gctggcaccc agcagcaaaa gcaccagcgg tggcacagca 480  
 gcactggggt gtctggtgaa agattathtt ccggaaccgg ttacagttag ctggaatagc 540  
 ggtgccctga ccagcgggtg tcataccttt ccggcagttc tgcagagcag cggctctgtat 600  
 agcctgtcta gcgttggttac cgttcogagc agcagcctgg gcaccagac ctatatttgc 660  
 aatgtgaatc ataaaccgag caataccaaa gtggataaaa aagtggagcc taagagctgt 720  
 gacaaaactc acacaggtgg aggogggccc ggtggaggcg ggtccggggg accgtcagtc 780  
 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840  
 tgcggtggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900  
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960  
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctggcc caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020  
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080  
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggagga gatgaccaag 1140  
 aaccaggtca acctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctggag 1200  
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1260  
 gacggctcct tcttctcaa cagcaccctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320  
 aacgtcttct catgctcctg gatgcatgag gctctggcca accactacac gcagaagagc 1380  
 ctctcctgt ccccggttaa atga 1404

<210> 77

<211> 677

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 77

ES 2 664 095 T3

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15

Ala His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln  
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
 35 40 45

Ser Asn Tyr Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Thr Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Val Ser Ala Ile Gly Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly  
 65 70 75 80

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser  
 85 90 95

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Arg Glu Lys Ser Ser Thr Ser Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
 115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 195 200 205

ES 2 664 095 T3

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn  
 370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val  
 420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser



<213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 78

ES 2 664 095 T3

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gactccgag 60  
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtagagcctg gggggtccct gagactctcc 120  
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtaac tacgacatgt actgggtccg ccaaactaca 180  
ggaaaaggtc tggagtgggt ctcagctatt ggtactgctg gtgacacata ctatccaggc 240  
tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gaaaatgcca agaactcctt gtatcttcaa 300  
atgaacagcc tgagagccgg ggacacggct gtgtattact gtgcaagaga gaagtctagc 360  
acctgggect ttgactactg gggccaggga acctgggtca cegtctctc agcctccacc 420  
aagggcccca gogtgtttcc gctggcaccg agcagcaaaa gcaccagcgg tggcacagca 480  
gactggggtt gtctggtgaa agattatfff coggaaaccgg ttacagttag ctggaatagc 540  
ggtgccctga ccagcgggtg tcataccttt ccggcagttc tgcaagagcag cggctctgtat 600  
agcctgtcta gcgttggttac cgttccgagc agcagcctgg gcaccagac ctatatttgc 660  
aatgtgaatc ataaaccgag caataccaaa gtggataaaa aagtggagcc taagagctgt 720  
gacaaaactc acacaggtgg aggcgggtcc ggtggaggcg ggtccggggg accgtcagtc 780  
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggaccoc tgaggtcaca 840  
tgogtggggg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 900  
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960  
cgtgtggtca gcgtctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020  
tgcaaggctc ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1080  
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggagga gatgaccaag 1140  
aaccaggtca acctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctggag 1200  
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccggt gctggactcc 1260  
gacggctcct tcttctcaa cagcaccctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320  
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380  
ctctccctgt ccccggtgg gggaccgtca gtcttctct tcccccaaa acccaaggac 1440  
acctcatga tctcccggac ccctgaggtc acatgcgtgg tgggtggacgt gagccaagaa 1500  
gacctgagg tcaagttcaa ctggtacgtg gacggcgtgg aggtgcataa tgccaagaca 1560  
aagcgcgggg aggagcagta caacagcacg tacogtggg tcagcgtcct caccgtctg 1620  
caccaggact ggctgaatgg caaggagtac aagtgcaagg tctccaacaa agccctcca 1680  
gccccatcg agaaaacct ctccaaagcc aaagggcagc cccgagaacc acaggtgtac 1740

ES 2 664 095 T3

accctgcccc catcccggga ggagatgacc aagaaccagg tcaacctgac ctgcctggtc 1800  
aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac 1860  
aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac tccgacggct ccttcttct caacagcacc 1920  
ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat 1980  
gaggctctgc acaaccacta cacgcagaag agcctctccc tgtccccggg taaatga 2037

<210> 79

<211> 682

<212> PRT

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 79



ES 2 664 095 T3

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
 1 5 10 15

Ala His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln  
 20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
 35 40 45

Ser Asn Tyr Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Thr Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60

Glu Trp Val Ser Ala Ile Gly Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly  
 65 70 75 80

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser  
 85 90 95

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110

Tyr Cys Ala Arg Glu Lys Ser Ser Thr Ser Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
 115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 165 170 175

ES 2 664 095 T3

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn  
 370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val



ES 2 664 095 T3

Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
675 680

- 5  
<210> 80  
<211> 2049  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial  
  
<220>  
<223> Construcción sintética  
  
<400> 80

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcaactccgag      60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtacagcctg gggggtcctt gagactctcc      120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtaac tacgacatgt actgggtccg ccaaactaca      180
ggaaaaggtc tggagtgggt ctcagctatt ggtactgctg gtgacacata ctatccaggc      240
tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gaaaatgcc aagaactcctt gtatcttcaa      300
atgaacagcc tgagagccgg ggacacggct gtgtattact gtgcaagaga gaagtctagc      360
acctcggcct ttgactactg gggccaggga accctgggtc ccgtctcctc agcctccacc      420
aagggcccca gcgtgtttcc gctggcaccg agcagcaaaa gcaccagcgg tggcacagca      480
gcaactgggt gtctggtgaa agattathtt ccggaaccgg ttacagttag ctggaatagc      540
ggtgccctga ccagcgggtg tcataccttt ccggcagttc tgcagagcag cggctctgtat      600
agcctgtcta gcgttggttac cgttccgagc agcagcctgg gcaccagac ctatatttgc      660
aatgtgaatc ataaaccgag caataccaaa gtggataaaa aagtggagcc taagagctgt      720
gacaaaactc acacaggtgg aggcgggtcc ggtggaggcg ggtccggggg accgtcagtc      780
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca      840
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtc agttcaactg gtacgtggac      900
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac      960
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag     1020
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa     1080
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag     1140
aaccaggtca acctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag     1200
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc     1260
gacggctcct tcttctcaa cagcacctc accgtggaca agagcagggt gcagcagggg     1320
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc     1380
ctctccctgt ccccggttgg tggcggtctc gggggaccgt cagtcttctt cttcccccca     1440
aaaccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac     1500

```

ES 2 664 095 T3

gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat 1560  
aatgccaaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc 1620  
ctcacccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac 1680  
aaagccctcc cagcccccat cgagaaaacc atctccaag ccaaagggca gccccgagaa 1740  
ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggagatga ccaagaacca ggtcaacctg 1800  
acctgacctg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1860  
cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctctttcttc 1920  
ctcaacagca ccctcacctg ggacaagagc aggtggcagc aggggaacct cttctcatgc 1980  
tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtccocg 2040  
ggtaaatga 2049

<210> 81  
<211> 687  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Construcción sintética  
<400> 81

|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|
| Met | Gly | Trp | Ser | Cys | Ile | Ile | Leu | Phe | Leu | Val | Ala | Thr | Ala | Thr | Gly |
| 1   |     |     |     | 5   |     |     |     |     | 10  |     |     |     |     | 15  |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Ala | His | Ser | Glu | Val | Gln | Leu | Val | Glu | Ser | Gly | Gly | Gly | Leu | Val | Gln |
|     |     |     | 20  |     |     |     |     | 25  |     |     |     |     | 30  |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Pro | Gly | Gly | Ser | Leu | Arg | Leu | Ser | Cys | Ala | Ala | Ser | Gly | Phe | Thr | Phe |
|     |     | 35  |     |     |     |     | 40  |     |     |     |     | 45  |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Ser | Asn | Tyr | Asp | Met | Tyr | Trp | Val | Arg | Gln | Thr | Thr | Gly | Lys | Gly | Leu |
|     | 50  |     |     |     |     | 55  |     |     |     |     | 60  |     |     |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Glu | Trp | Val | Ser | Ala | Ile | Gly | Thr | Ala | Gly | Asp | Thr | Tyr | Tyr | Pro | Gly |
| 65  |     |     |     |     | 70  |     |     |     |     | 75  |     |     |     |     | 80  |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Ser | Val | Lys | Gly | Arg | Phe | Thr | Ile | Ser | Arg | Glu | Asn | Ala | Lys | Asn | Ser |
|     |     |     |     | 85  |     |     |     |     | 90  |     |     |     |     | 95  |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Leu | Tyr | Leu | Gln | Met | Asn | Ser | Leu | Arg | Ala | Gly | Asp | Thr | Ala | Val | Tyr |
|     |     |     | 100 |     |     |     |     | 105 |     |     |     |     | 110 |     |     |
|     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |     |
| Tyr | Cys | Ala | Arg | Glu | Lys | Ser | Ser | Thr | Ser | Ala | Phe | Asp | Tyr | Trp | Gly |
|     |     | 115 |     |     |     |     | 120 |     |     |     |     | 125 |     |     |     |

ES 2 664 095 T3

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 225 230 235 240

Asp Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 245 250 255

Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 260 265 270

Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 275 280 285

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn  
 370 375 380

ES 2 664 095 T3

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val  
 420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 450 455 460

Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Pro Ser Val  
 465 470 475 480

Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr  
 485 490 495

Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu  
 500 505 510

Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys  
 515 520 525

Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser  
 530 535 540

Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys  
 545 550 555 560

Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile  
 565 570 575

Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro  
 580 585 590

Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn Leu Thr Cys Leu  
 595 600 605

Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn  
 610 615 620

Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser  
 625 630 635 640

ES 2 664 095 T3

Asp Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg  
 645 650 655

Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu  
 660 665 670

His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 675 680 685

<210> 82  
 <211> 2064  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> Construcción sintética

<400> 82

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacagggcg gcaactccgag      60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggettg gtacagcctg gggggtcctt gagactctcc      120
tgtgcagcct ctggattcac cttcagtaac tacgacatgt actgggtccg ccaaactaca      180
ggaaaaggtc tggagtgggt ctcagctatt ggtactgctg gtgacacata ctatccaggc      240
tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gaaaatgcc aagaactcctt gtatcttcaa      300
atgaacagcc tgagagccgg ggacacggct gtgtattact gtgcaagaga gaagtctagc      360
acctcggcct ttgactactg gggccagggg accctggcca cagtctcttc agcctccacc      420
aagggcccga gcgtgtttcc gctggcaccg agcagcaaaa gcaccagcgg tggcacagca      480
gcaactgggt gtctggtgaa agattatctt ccggaaccgg ttacagttag ctggaatagc      540
ggtgccctga ccagcgggtg tcataccttt ccggcagttc tgcagagcag cggctctgtat      600
agcctgtcta gcgttggtac cgttccgagc agcagcctgg gcaccagac ctatatttgc      660
aatgtgaatc ataaaccgag caataccaaa gtggataaaa aagtggagcc taagagctgt      720
gacaaaactc acacaggtgg aggcgggtcc ggtggaggcg ggtccggggg accgtcagtc      780
ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca      840
tgcggtggtg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac      900
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac      960
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag     1020
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa     1080
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag     1140
aaccaggtca acctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagegacat cgccgtggag     1200
    
```



ES 2 664 095 T3

tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1260  
gacggctcct tcttctcaa cagcaccctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320  
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380  
ctctccctgt ccccgggtgg tggcggtcc ggcggtgag ggtctggggg accgtcagtc 1440  
ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 1500  
tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac 1560  
ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtaca cagcacgtac 1620  
cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1680  
tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa 1740  
gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1800  
aaccaggtca acctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctggag 1860  
tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc 1920  
gacggctcct tcttctcaa cagcaccctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1980  
aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 2040  
ctctccctgt ccccgggtaa atga 2064

<210> 83  
<211> 692  
<212> PRT  
5 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> Construcción sintética

<400> 83

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

ES 2 664 095 T3

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110  
 Tyr Cys Ala Arg Glu Lys Ser Ser Thr Ser Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
 115 120 125  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 130 135 140  
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 145 150 155 160  
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 165 170 175  
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 180 185 190  
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 195 200 205  
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 210 215 220  
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 225 230 235 240  
 Asp Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 245 250 255  
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 260 265 270  
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 275 280 285  
 Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 290 295 300  
 His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 305 310 315 320  
 Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 325 330 335  
 Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile



Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val  
 595 600 605

Asn Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val  
 610 615 620

Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro  
 625 630 635 640

Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr  
 645 650 655

Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val  
 660 665 670

Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu  
 675 680 685

Ser Pro Gly Lys  
 690

<210> 84

<211> 2079

<212> ADN

5 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> Construcción sintética

<400> 84

ES 2 664 095 T3

|   |     |
|---|-----|
| atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacagggcg gcactccgag | 60  |
| gtgcagctgg tggagtctgg gggaggettg gtacagcctg gggggtcctt gagactctcc | 120 |
| tgtgcagcct ctggattcac cttcagtaac tacgacatgt actgggtccg ccaaactaca | 180 |
| ggaaaaggtc tggagtgggt ctcagctatt ggtactgctg gtgacacata ctatccaggc | 240 |
| tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gaaaatgcca agaactcctt gtatcttcaa | 300 |
| atgaacagcc tgagagccgg ggacacggct gtgtattact gtgcaagaga gaagtctagc | 360 |
| acctoggcct ttgactactg gggccaggga accctggcca ccgtctctc agcctccacc  | 420 |
| aagggcccga gcgtgtttcc gctggcaccg agcagcaaaa gcaccagcgg tggcacagca | 480 |
| gcactggggt gtctggtgaa agattathtt ccggaaccgg ttacagttag ctggaatagc | 540 |
| ggtgccctga ccagcgggtg tcataccttt ccggcagttc tgcagagcag cggctctgat | 600 |
| agcctgtcta gcgttggtac cgttccgagc agcagcctgg gcaccagac ctatatttgc  | 660 |
| aatgtgaatc ataaaccgag caataccaaa gtggataaaa aagtggagcc taagagctgt | 720 |
| gacaaaactc acacaggtgg aggcgggtcc ggtggaggcg ggtccggggg accgtcagtc | 780 |



ES 2 664 095 T3

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
 35 40 45  
 Ser Asn Tyr Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Thr Gly Lys Gly Leu  
 50 55 60  
 Glu Trp Val Ser Ala Ile Gly Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly  
 65 70 75 80  
 Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser  
 85 90 95  
 Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr  
 100 105 110  
 Tyr Cys Ala Arg Glu Lys Ser Ser Thr Ser Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
 115 120 125  
 Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
 130 135 140  
 Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
 145 150 155 160  
 Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
 165 170 175  
 Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
 180 185 190  
 Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
 195 200 205  
 Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
 210 215 220  
 Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys  
 225 230 235 240  
 Asp Lys Thr His Thr Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
 245 250 255  
 Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met  
 260 265 270  
 Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His  
 275 280 285

ES 2 664 095 T3

Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val  
 290 295 300

His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr  
 305 310 315 320

Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly  
 325 330 335

Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile  
 340 345 350

Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val  
 355 360 365

Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn  
 370 375 380

Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu  
 385 390 395 400

Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro  
 405 410 415

Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val  
 420 425 430

Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met  
 435 440 445

His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser  
 450 455 460

Pro Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 465 470 475 480

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe Pro Pro Lys  
 485 490 495

Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val Thr Cys Val  
 500 505 510

Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val Lys Phe Asn Trp Tyr  
 515 520 525

Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro Arg Glu Glu  
 530 535 540



Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr Val Leu His  
545 550 555 560

Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val Ser Asn Lys  
565 570 575

Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala Lys Gly Gln  
580 585 590

Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Arg Glu Glu Met  
595 600 605

Thr Lys Asn Gln Val Asn Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly Phe Tyr Pro  
610 615 620

Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro Glu Asn Asn  
625 630 635 640

Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser Phe Phe Leu  
645 650 655

Asn Ser Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Gln Gly Asn Val  
660 665 670

Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His Tyr Thr Gln  
675 680 685

Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
690 695

<210> 86  
<211> 2094  
<212> ADN  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> Construcción sintética  
<400> 86

```

atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcactccgag      60
gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtacagcctg gggggtcctt gagactctcc      120
tgtgcagcct ctgattcac cttcagtaac tacgacatgt actgggtccg ccaaactaca      180
ggaaaaggtc tggagtgggt ctcagctatt ggtactgctg gtgacacata ctatccaggc      240
tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gaaaatgcc aagaactcctt gtatcttcaa      300
atgaacagcc tgagagccgg ggacacggct gtgtattact gtgcaagaga gaagtctagc      360
    
```

ES 2 664 095 T3

acctcgccct ttgactactg gggccagggg accctgggtca ccgtctcctc agcctccacc 420  
 aagggcccga gogtgtttcc gctggcacog agcagcaaaa gcaccagcgg tggcacagca 480  
 gcactgggtt gtctgggtgaa agattatttt ccggaaccgg ttacagttag ctggaatagc 540  
 ggtgccctga ccagcgggtg tcataccttt ccggcagttc tgcagagcag cggctctgtat 600  
 agcctgtcta gcgttggttac cgttccgagc agcagcctgg gcaccacagac ctatatattgc 660  
 aatgtgaatc ataaaccgag caataccaaa gtggataaaa aagtggagcc taagagctgt 720  
 gacaaaactc acacaggtgg aggcgggtcc ggtggaggcg ggtccggggg accgtcagtc 780  
 ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca 840  
 tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac cctgagggtca agttcaactg gtacgtggac 900  
 ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac 960  
 cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag 1020  
 tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaacccatctc caaagccaaa 1080  
 gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag 1140  
 aaccaggtca acctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag 1200  
 tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgctcccgt gctggactcc 1260  
 gacggctcct tcttctcaa cagcacctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg 1320  
 aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc 1380  
 ctctccctgt ccccggtgg tggcggtcc ggaggtggcg gaagcggcgg tggaggtct 1440  
 ggtggaggag ggtcagggg accgtcagtc ttctcttcc ccccaaaacc caaggacacc 1500  
 ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca tgcgtggtgg tggacgtgag ccacgaagac 1560  
 cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaag 1620  
 ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac 1680  
 caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc 1740  
 cccatcgaga aaacccatctc caaagccaaa gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc 1800  
 ctgcccccat cccgggagga gatgaccaag aaccaggtca acctgacctg cctggtcaaa 1860  
 ggcttctatc ccagcgacat cgccgtggag tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac 1920  
 tacaagacca cgctcccgt gctggactcc gacggctcct tcttctcaa cagcacctc 1980  
 accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag 2040  
 gctctgcaca accactacac gcagaagagc ctctccctgt ccccggttaa atga 2094

<210> 87  
 <211> 702  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>

<223> Construcción sintética

<400> 87

ES 2 664 095 T3

Met Gly Trp Ser Cys Ile Ile Leu Phe Leu Val Ala Thr Ala Thr Gly  
1 5 10 15

Ala His Ser Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln  
20 25 30

Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe  
35 40 45

Ser Asn Tyr Asp Met Tyr Trp Val Arg Gln Thr Thr Gly Lys Gly Leu  
50 55 60

Glu Trp Val Ser Ala Ile Gly Thr Ala Gly Asp Thr Tyr Tyr Pro Gly  
65 70 75 80

Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Glu Asn Ala Lys Asn Ser  
85 90 95

Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Gly Asp Thr Ala Val Tyr  
100 105 110

Tyr Cys Ala Arg Glu Lys Ser Ser Thr Ser Ala Phe Asp Tyr Trp Gly  
115 120 125

Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser  
130 135 140

Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr Ala  
145 150 155 160

Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val  
165 170 175

Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala  
180 185 190

Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val  
195 200 205

Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His  
210 215 220

Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys



ES 2 664 095 T3

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Pro Ser Val Phe  
 485 490 495

Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro  
 500 505 510

Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu Val  
 515 520 525

Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr  
 530 535 540

Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val  
 545 550 555 560

Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys  
 565 570 575

Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile Ser  
 580 585 590

Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro  
 595 600 605

Ser Arg Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Asn Leu Thr Cys Leu Val  
 610 615 620

Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly  
 625 630 635 640

Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp  
 645 650 655

Gly Ser Phe Phe Leu Asn Ser Thr Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp  
 660 665 670

Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His  
 675 680 685

Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys  
 690 695 700

<210> 88  
 <211> 2109  
 <212> ADN  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>

ES 2 664 095 T3

<223> Construcción sintética

<400> 88

|  |      |
|--|------|
| atgggatgga gctgtatcat cctcttcttg gtagcaacag ctacaggcgc gcaactccgag | 60   |
| gtgcagctgg tggagtctgg gggaggcttg gtacagcctg gggggtccct gagactctcc  | 120  |
| tgtgcagcct ctggattcac cttcagtaac tacgacatgt actgggtccg ccaaactaca  | 180  |
| ggaaaaggtc tggagtgggt ctcagctatt ggtactgtg gtgacacata ctatccaggc   | 240  |
| tccgtgaagg gccgattcac catctccaga gaaaatgcc agaactcctt gtatcttcaa   | 300  |
| atgaacagcc tgagagccgg ggacacggct gtgtattact gtgcaagaga gaagtctagc  | 360  |
| acctcggcct ttgactactg gggccaggga accctggta ccgtctctc agcctccacc    | 420  |
| aagggcccga gcgtgtttcc gctggcaccg agcagcaaaa gcaccagcgg tggcacagca  | 480  |
| gcactgggtt gtctggtgaa agattatfff ccggaaccgg ttacagttag ctggaatagc  | 540  |
| ggtgccctga ccagcgggtg tcataccttt ccggcagttc tgcagagcag cggctctgat  | 600  |
| agcctgteta gcgttgttac cgttccgagc agcagcctgg gcacccagac ctatatattgc | 660  |
| aatgtgaatc ataaaccgag caataccaaa gtggataaaa aagtggagcc taagagctgt  | 720  |
| gacaaaactc acacaggtgg aggggggtcc ggtggaggcg ggtccggggg accgtcagtc  | 780  |
| ttcctcttcc ccccaaaacc caaggacacc ctcatgatct cccggacccc tgaggtcaca  | 840  |
| tgcgtggtgg tggacgtgag ccaogaagac cctgaggtca agttcaactg gtacgtggac  | 900  |
| ggcgtggagg tgcataatgc caagacaaaag ccgcgggagg agcagtacaa cagcacgtac | 960  |
| cgtgtggtca gcgtcctcac cgtcctgcac caggactggc tgaatggcaa ggagtacaag  | 1020 |
| tgcaaggtct ccaacaaagc cctcccagcc cccatcgaga aaaccatctc caaagccaaa  | 1080 |
| gggcagcccc gagaaccaca ggtgtacacc ctgccccat cccgggagga gatgaccaag   | 1140 |
| aaccaggtca acctgacctg cctggtcaaa ggcttctatc ccagcgacat cgcctggag   | 1200 |
| tgggagagca atgggcagcc ggagaacaac tacaagacca cgcctcccgt gctggactcc  | 1260 |
| gacggctcct tcttctcaa cagcaccctc accgtggaca agagcaggtg gcagcagggg   | 1320 |
| aacgtcttct catgctccgt gatgcatgag gctctgcaca accactacac gcagaagagc  | 1380 |
| ctctccctgt ccccggtg tggcggctcc ggaggcggag gctccggagg tggcgggaagc   | 1440 |
| ggcgtggag ggtctggtg aggagggtca gggggaccgt cagtcttctt cttccccca     | 1500 |
| aaacccaagg acaccctcat gatctcccgg acccctgagg tcacatgcgt ggtggtggac  | 1560 |
| gtgagccacg aagaccctga ggtcaagttc aactggtacg tggacggcgt ggaggtgcat  | 1620 |
| aatgccaaga caaagccgcg ggaggagcag tacaacagca cgtaccgtgt ggtcagcgtc  | 1680 |
| ctcaccgtcc tgcaccagga ctggctgaat ggcaaggagt acaagtgcaa ggtctccaac  | 1740 |
| aaagccctcc cagccccat cgagaaaacc atctccaaag ccaaagggca gccccgagaa   | 1800 |
| ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccgg gaggatga ccaagaacca ggtcaacctg    | 1860 |

ES 2 664 095 T3

acctgcctgg tcaaaggctt ctatcccagc gacatcgccg tggagtggga gagcaatggg 1920  
 cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg ctccctcttc 1980  
 ctcaacagca ccctcacogt ggacaagagc aggtggcagc aggggaacgt cttctcatgc 2040  
 tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacgcaga agagcctctc cctgtccccg 2100  
 ggtaaatga 2109

5 <210> 89  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Construcción sintética  
 <400> 89

Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5

10 <210> 90  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 15 <223> Construcción sintética  
 <400> 90

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5 10

20 <210> 91  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> Construcción sintética  
 <400> 91

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
 1 5 10 15

25 <210> 92  
 <211> 20  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 30 <220>  
 <223> Construcción sintética  
 <400> 92



Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser  
20

- <210> 93
- <211> 25
- <212> PRT
- <213> Secuencia artificial
- <220>
- <223> Construcción sintética
- <400> 93

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly  
1 5 10 15

Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser  
20 25

10

## REIVINDICACIONES

1. Un polipéptido monomérico que contiene Fc que comprende un dominio CH2 de IgG y un dominio CH3 de IgG, en el que el dominio CH3 comprende sitios de glicosilación en la interfase de dimerización CH3-CH3, en el que los sitios de glicosilación unido a N diseñados mediante ingeniería genética se selecciona entre el grupo que consiste en  
5 a) S364N e Y407N-X-K409T; b) S364N-X-T366S e Y407N-X-K409T; c) S364N e Y407N-X-K409S; y d) S364N-X-T366S e Y407N-X-K409S, en el que X es cualquier aminoácido excepto Pro, y en el que la numeración de los restos se basa en el esquema de numeración de EU de Kabat.
2. Un polipéptido que comprende al menos dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante de la reivindicación 1, en el que cada polipéptido que contiene Fc tiene el mismo, o diferentes sitios de  
10 glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética, en la interfase de dimerización CH3-CH3.
3. El polipéptido que se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además uno o más sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética en la interfase CH2-CH2.
4. El polipéptido que se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que la modificación del aminoácido en el dominio CH2 se selecciona entre el grupo que consiste en S239N-X-F241S, S239N-X-F241T,  
15 F241N-X-243T, F241N-X-243S, E258N, E258N-X-T260S, T260N-X-V262T, T260N-X-V262S, V262N-X-V264S, V262N-X-V264T, K288T, K288S, K288N-K290T, K288N-K290S, V305N y V305N-X-T307S, en el que la numeración de los restos se basa en el esquema de numeración de EU de Kabat.
5. El polipéptido que se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, que comprende además un Fab.
- 20 6. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 2-5, en el que cada polipéptido que contiene Fc está unido de forma recombinante mediante una unión en el extremo C-N o mediante un enlazador.
7. El polipéptido de la reivindicación 6, en el que el enlazador comprende la secuencia de aminoácidos (GGGGS)<sub>n</sub>, en la que n=1-10.
8. El polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el polipéptido comprende dos polipéptidos monoméricos que contienen Fc unidos de manera recombinante, en el que cada polipéptido que  
25 contiene Fc tiene los mismos sitios de glicosilación unidos a N en cada interfase de dimerización CH3-CH3, y en el que además, los sitios de glicosilación unidos a N diseñados mediante ingeniería genética son S364N-X-T366 y Y407N-X-K409T, en el que la numeración de los restos se basa en el esquema de numeración de EU de Kabat.
9. El polipéptido que se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores, en el que el polipéptido se estabiliza mediante la glicosilación unida a N.  
30
10. Una proteína de fusión-Fc que comprende el polipéptido que se reivindica en una cualquiera de las reivindicaciones anteriores.
11. Un polinucleótido aislado que comprende una secuencia de nucleótidos que codifica el polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9.
- 35 12. Un vector que comprende el polinucleótido de la reivindicación 11.
13. Una célula hospedadora que comprende el polinucleótido de la reivindicación 11 o el vector de la reivindicación 12, o que expresa el polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9.
14. Un procedimiento de producción del polipéptido de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 que comprende la etapa de cultivar la célula hospedadora de la reivindicación 13 y, opcionalmente, recuperar el polipéptido.
- 40 15. Una composición farmacéutica que comprende un compuesto de una cualquiera de las reivindicaciones 1-9 o una proteína de fusión Fc según la reivindicación 10, y un vehículo farmacéuticamente aceptable.

FIG. 1A

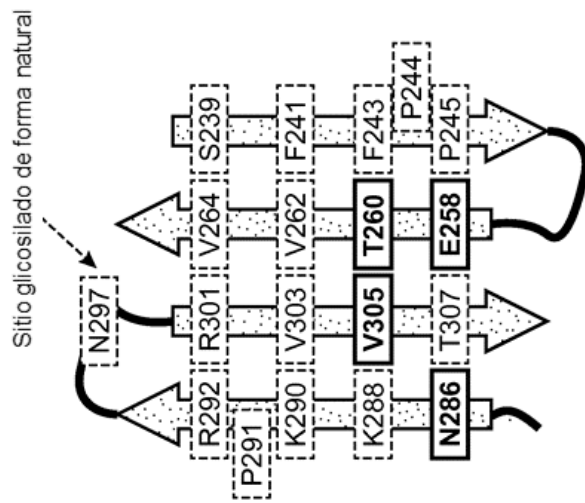


FIG. 1B

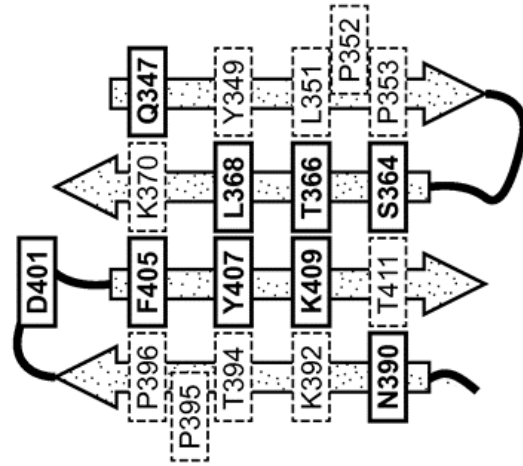
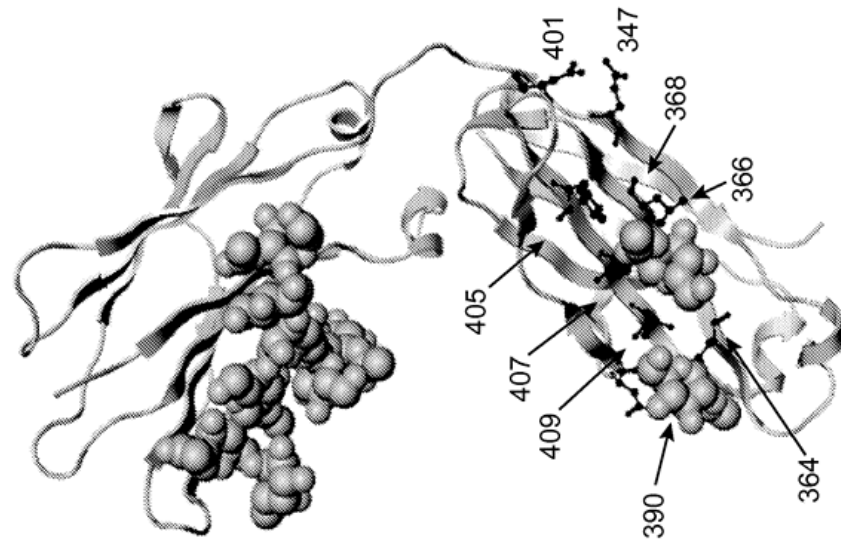


FIG. 2

|       |       |  |   |                                 |
|-------|-------|--|---|---------------------------------|
| hIgG1 | 344 * | REPQVYTLPPSRDELTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK  | * | TTTP                            |
| hIgG2 |       | REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDISVEWESNGQPENNYK  |   | TTTP                            |
| hIgG3 |       | REPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYN  |   | TTTP                            |
| hIgG4 |       | REPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYK  |   | TTTP                            |
| mIgG1 |       | KAPQVYTIIPPKEQMAKDKVSLTCMITDFFPEDI TVEWQWNGQPAENYK |   | NTQ                             |
| mIG2A |       | RAPQVYVLPPEEEMTKKQVTLTCMVTDFMPEDI YVEWTNNGKTELNYK  |   | NTE                             |
| mIG2B |       | RAPQVYIILPPPAEQLSRKDVSLTCLVVGFNPGDISVEWTSNGHTEENYK |   | DDTA                            |
| mIgG3 |       | QTPQVYTIIPPREQMSKKVSLTCLVTNFFSEAI SVEWERNGELEQDYK  |   | NTP                             |
| hIgG1 | 396   | FVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC                      |   | SCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK         |
| hIgG2 |       | FVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC                      |   | SCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK         |
| hIgG3 |       | FVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNI FSC                    |   | VMHEALHNRF TQKSLSLSPGK          |
| hIgG4 |       | FVLDSGGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFC                      |   | SCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGK         |
| mIgG1 |       | FIMNTNGSYFVYSKLNQKSNWEAGNTFTCS                     |   | VHEGLHNHHTKSLSHSPGK             |
| mIG2A |       | FVLDSGGSYFMYSKLRVEKKNWVERNSYCS                     |   | VHEGLHNHHTTKSFSRTPGK            |
| mIG2B |       | FVLDSGGSYFIYSKLNMTSKWEKTD                          |   | FSFCNVRHEGLKNYLLKTTISRS         |
| mIgG3 |       | FVLDSGGSYFIYSKLTVD                                 |   | TD SWLQGEI FTCSVVEALHNHHTQKNLSR |

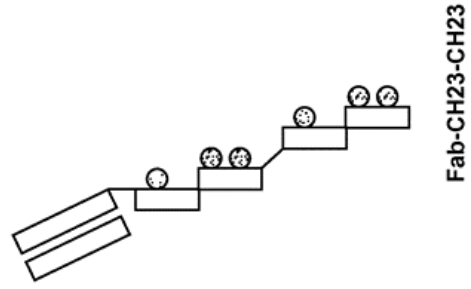
FIG. 3

|       |                    |  |         |         |   |
|-------|--------------------|--|---------|---------|---|
|       | 236                |  | *       |         | * |
| hIgG1 | GGPSVFLFPPKPKDTLMI | SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKT   |         |         |   |
| hIgG2 | AGPSVFLFPPKPKDTLMI | SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT   |         |         |   |
| hIgG3 | GGPSVFLFPPKPKDTLMI | SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKWYVDGVEVHNAKT   |         |         |   |
| hIgG4 | GGPSVFLFPPKPKDTLMI | SRTPEVTCVVVDVSEQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKT  |         |         |   |
| mIgG1 | EVSSVFIFFPKPKDVLTI | TLTPKVTCCVVDISKDDPEVQFSWFVDDVEVHTAQT   |         |         |   |
| mIg2A | GGPSVFIFFPKIKDVLMI | SLSPIVTCVVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQT    |         |         |   |
| mIg2B | GGPSVFIFFPNIKDVLMI | SLTPKVTCCVVDVSEDDPDVQISWVFNNEVHTAQT    |         |         |   |
| mIgG3 | GGPSVFIFFPKPKDALMI | SLTPKVTCCVVDVSEDDPDVHVSWFVDNKEVHTAWT   |         |         |   |
|       | 290                |  | *       | *       |   |
| hIgG1 | KPREEQYNS          | TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI | SKAKGQP |         |   |
| hIgG2 | KPREEQFNST         | FRVVSVLTVVHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPAPIEKTI  | SKTKGQP |         |   |
| hIgG3 | KPREEQYNS          | TYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTI | SKTKGQP |         |   |
| hIgG4 | KPREEQFNST         | FRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTI  | SKAKGQP |         |   |
| mIgG1 | QPREEQFNST         | FRSVSELPIMHQDWLNGKEFKCRVNSAAFPAPIEKTI  | SKTKGRP |         |   |
| mIg2A | QTHREDYNS          | TLRVVSALPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPAPIERTI | SKPKGSV |         |   |
| mIg2B | QTHREDYNS          | TLRVVSTLPIQHQDWMSGKEFKCKVNNKDLPSP      | IERTI   | SKIKGLV |   |
| mIgG3 | QPREAQYNS          | TYRVVSALPIQHQDWMRGKEFKCKVNNKALPAPIERTI | SKPKGRA |         |   |

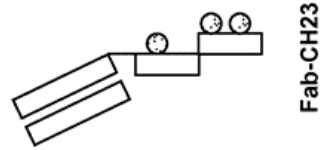


**FIG. 4**

**FIG. 5C**



**FIG. 5B**



**FIG. 5A**

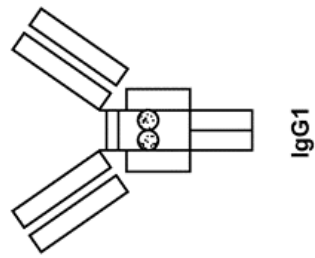


FIG. 6

