

19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 703 192**

51 Int. Cl.:

**C12N 15/82** (2006.01)

**C07K 16/14** (2006.01)

**A01N 37/46** (2006.01)

**A01N 63/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.04.2014 PCT/EP2014/058771**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.11.2014 WO14177595**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.04.2014 E 14727410 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **10.10.2018 EP 2992101**

54 Título: **Composiciones agroquímicas que contienen anticuerpos que se unen a esfingolípidos**

30 Prioridad:

**29.04.2013 US 201361817170 P**

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

**07.03.2019**

73 Titular/es:

**AGROSAVFE NV (100.0%)  
Technologiepark 94  
9052 Gent , BE**

72 Inventor/es:

**VERHEESEN, PETER;  
DE JONGHE, CHRIS;  
VAN DAELE, INGE ELODIE;  
DE BOLLE, MIGUEL FRANCESCO COLETA;  
VELOSO VIEIRA, JOÃO FILIPE;  
Cammue, Bruno y  
THEVISSSEN, KARIN**

74 Agente/Representante:

**ARIAS SANZ, Juan**

ES 2 703 192 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

Composiciones agroquímicas que contienen anticuerpos que se unen a esfingolípidos.

## 5 Campo de la invención

La presente invención se refiere a la realización de un control de plagas vegetales. Más específicamente la invención proporciona composiciones agroquímicas que contienen composiciones de polipéptidos de una longitud y concentración específicas que son útiles para combatir plagas de cultivos como insectos, hongos, nematodos, bacterias y similares.

## Antecedentes

La protección de cultivos, requerida para una agricultura eficaz, se basa en gran medida en el uso de pesticidas, que se aplican a los cultivos asperjándolos sobre el cultivo, aplicándolos durante el riego de los cultivos o incorporándolos al suelo. Los pesticidas son a menudo moléculas químicas orgánicas y su aplicación repetida a los cultivos representa una amenaza de toxicidad tanto para los trabajadores agrícolas durante la manipulación, como para el medio ambiente, debido a la deriva de la aspersión, la persistencia en el suelo o el lavado hacia las aguas superficiales o subterráneas. Sería ventajoso poder usar compuestos alternativos que fueran menos tóxicos para los seres humanos y el medio ambiente, pero que al mismo tiempo proporcionen un control eficaz de las plagas vegetales. Los plaguicidas proteínicos con especificidad contra una determinada plaga vegetal pueden ser muy ventajosos a este respecto, ya que se espera que sean de corta duración en el medio ambiente y tengan menos efectos tóxicos sobre otros elementos que no sean la diana. Sin embargo, sólo se conocen unos pocos pesticidas proteínicos o peptidérgicos. Algunos ejemplos son toxinas Bt, lectinas, defensinas, fabatinas, taquiplesina, magainina, harpin (véase WO2010019442), subunidad b de albúmina de guisante 1 (PA1b). Sin embargo, estos pesticidas proteínicos son pequeños péptidos con estructuras compactas, estabilizados por varios puentes disulfuro, o son proteínas más grandes (> 300 aminoácidos) que se presentan en forma cristalina (toxinas cry). De hecho, se sabe en el campo de la agricultura que los productos biológicos, y en particular las proteínas, son estructuras desafiantes para el desarrollo de pesticidas, ya que generalmente tienen una estabilidad demasiado pequeña para mantener su función pesticida en una formulación agroquímica, en particular para aplicaciones en el campo.

Da Silva et al. 2004 FEBS Letters 561: 137-43) describen anticuerpos monoclonales y policlonales que se unen a la glucosilceramida de *Colletotrichum*. En presencia del anticuerpo, se bloqueó la diferenciación de conidios en micelio. Nimrichter y Rodrigues (2011 Frontiers in Microbiology 2: 212) describen que la glucosilceramida participa en el crecimiento y la diferenciación de los hongos y representa una diana prometedora para combatir los patógenos fúngicos. Sin embargo, sigue existiendo la necesidad de composiciones agroquímicas estables y específicas con actividad antifúngica.

## Resumen de la invención

La presente invención proporciona una composición agroquímica para proteger o tratar una planta o una parte de dicha planta de una infección u otra interacción biológica con un hongo fitopatógeno, que comprende al menos un  $V_{HH}$ , que se une específicamente a la glucosilceramida de un hongo fitopatógeno, y un agente humectante. En una realización preferida, el hongo fitopatógeno se elige del grupo compuesto por *Alternaria*, *Ascochyta*, *Botrytis*, *Cercospora*, *Colletotrichum*, *Diplodia*, *Erysiphe*, *Fusarium*, *Leptosphaeria*, *Gaeumanomyces*, *Helminthosporium*, *Macrophomina*, *Nectria*, *Penicillium*, *Peronospora*, *Phoma*, *Phymatotrichum*, *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Podosphaera*, *Puccinia*, *Pyrenophora*, *Pyricularia*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Scerotium*, *Sclerotinia*, *Septoria*, *Thielaviopsis*, *Uncinula*, *Venturia*, *Verticillium*, *Magnaporthe*, *Blumeria*, *Mycosphaerella*, *Ustilago*, *Melampsora*, *Phakospora*, *Monilinia*, *Mucor*, *Rhizopus*, y *Aspergillus*. En otra realización preferida, el al menos un  $V_{HH}$  está presente en una cantidad eficaz para proteger o tratar una planta o una parte de dicha planta de una infección u otra interacción biológica con dicho hongo fitopatógeno. En otra realización preferida, la concentración del al menos un  $V_{HH}$  en la composición agroquímica varía entre 0.0001% y 50% en peso, preferentemente entre 0.1% y 10% en peso. En otra realización preferida, la composición agroquímica de la presente invención contiene además un portador adecuado desde el punto de vista agroquímico y/o uno o más adyuvantes adecuados.

En una realización más preferida, el al menos un  $V_{HH}$  comprende una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 86, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 170, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 254, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 146, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 230, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 313, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 85, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 169, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 253, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 87, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 171, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 255, y/o





una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 153, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 237, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 320, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 154, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 238, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 321, y/o  
 5 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 155, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 239, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 322, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 156, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 240, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 323, y/o  
 10 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 157, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 241, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 324, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 158, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 242, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 325, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 159, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 243, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 326, y/o  
 15 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 160, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 244, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 327, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 161, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 245, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 328, y/o  
 20 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 162, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 246, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 329, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 163, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 247, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 330, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 164, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 248, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 331, y/o  
 25 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 165, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 249, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 332, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 166, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 250, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 333, y/o  
 30 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 167, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 251, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 334, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 168, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 252, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 335.

La presente invención también proporciona un método para proteger o tratar una planta o una parte de la planta de una infección u otra interacción biológica con un hongo fitopatógeno, que comprende al menos el paso de aplicar a la planta o a una parte de la planta, una composición agroquímica de acuerdo con la invención, en condiciones eficaces para proteger o tratar la planta o la parte de la planta contra la infección o la interacción biológica con los hongos fitopatógenos. En una realización preferida, la composición agroquímica se aplica a la planta o a una parte de la planta mediante aspersión, atomización, aplicación de espuma, nebulización, cultivo en hidro cultivo, cultivo en hidroponía, recubrimiento, sumersión y/o incrustación.

La presente invención también proporciona un método de tratamiento postcosecha para proteger o tratar una planta cosechada o una parte cosechada de la planta de una infección u otra interacción biológica con un hongo fitopatógeno, que comprende al menos el paso de aplicar a la planta cosechada o a una parte cosechada de la planta, una composición agroquímica de acuerdo con la presente invención, en condiciones eficaces para proteger o tratar la planta cosechada o una parte cosechada de la planta contra la infección o la interacción biológica con el hongo fitopatógeno.

Además la invención actual estipula la utilización de una composición agroquímica de acuerdo con la presente invención como fungicida y/o fungistático.

Los inventores de la presente desarrollaron exitosamente polipéptidos con especificidad, afinidad y potencia sorprendentemente altas contra plagas de plantas o cultivos, en particular plagas fitopatógenas, tales como, pero no exclusivamente, los hongos fitopatógenos. Además, se demuestra que estos polipéptidos conservan su integridad, estabilidad y actividad en una composición agroquímica (como se define más adelante en este documento) y que sorprendentemente se puede lograr el control eficaz de plagas o patógenos mediante la aplicación a los cultivos, de composiciones agroquímicas que contengan los polipéptidos dados a conocer en la presente solicitud. La eficacia y potencia de los polipéptidos dados a conocer en este documento sugiere un potencial para una menor dosis de tratamiento y/o un tratamiento más eficaz con la misma dosis. Esto puede conllevar una reducción de los efectos secundarios no deseados y una menor toxicidad. Además, esto permite la aplicación por hectárea de menores cantidades de los polipéptidos o las composiciones agroquímicas dados a conocer en este documento. Más particularmente, los inventores de la presente encontraron que dirigir a una estructura molecular de un fitopatógeno los polipéptidos concebidos en este documento permite un control eficiente de ese patógeno cuando se aplican directamente o indirectamente a una planta o a una o más partes de una planta.

En particular, los inventores de la presente desarrollaron polipéptidos o secuencias de aminoácidos que son capaces de prevenir, proteger, tratar o curar una planta de (que presente) una infección con un fitopatógeno o de cualquier otra interacción biológica con un fitopatógeno. Por lo tanto, la presente divulgación demuestra por primera vez que moléculas biológicas, como polipéptidos o secuencias de aminoácidos, se pueden utilizar eficazmente para proteger, o tratar, una planta de ser dañada de alguna manera por, o de sufrir, una interacción biológica entre la planta y un fitopatógeno, como por ejemplo a través de una infección con el fitopatógeno.

En un primer aspecto, la presente divulgación proporciona composiciones agroquímicas que contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo (un  $V_{HH}$  o un  $V_H$ ) o un fragmento funcional de éste, que se une específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno.

En realizaciones particulares, las composiciones agroquímicas dadas a conocer en este documento, contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo de cadena pesada ( $V_{HH}$ ), que está naturalmente desprovisto de cadenas ligeras, o un fragmento funcional de éste, como, pero no exclusivamente, un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo de cadena pesada de camélido ( $V_{HH}$  de camélido) o un fragmento funcional de éste.

En realizaciones particulares, las composiciones agroquímicas dadas a conocer aquí, contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo convencional de cuatro cadenas camelizado ( $V_H$  camelizado), o un fragmento funcional de éste.

En ciertas realizaciones, las composiciones agroquímicas dadas a conocer aquí, tienen al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo o un fragmento funcional de éste, que no tiene una secuencia de aminoácidos que sea exactamente la misma (es decir, con un grado de identidad de secuencia del 100%) que la secuencia de aminoácidos de un dominio  $V_H$  de origen natural, como la secuencia de aminoácidos de un dominio  $V_H$  de origen natural de un mamífero, y en particular de un ser humano.

En otras realizaciones particulares, las composiciones agroquímicas como las dadas a conocer aquí, contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo o un fragmento funcional de éste, que se une específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno, como por ejemplo, pero no exclusivamente, a la glucosilceramida.

En ciertas realizaciones particulares, las composiciones agroquímicas dadas a conocer aquí, contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo o un fragmento funcional de éste, que se une específicamente a un hongo fitopatógeno, como, pero no exclusivamente, un hongo fitopatógeno de un género elegido del grupo compuesto por *Alternaria*, *Ascochyta*, *Botrytis*, *Cercospora*, *Colletotrichum*, *Diplodia*, *Erysiphe*, *Fusarium*, *Leptosphaeria*, *Gaeumanomyces*, *Helminthosporium*, *Macrophomina*, *Nectria*, *Penicillium*, *Peronospora*, *Phoma*, *Phymatotrichum*, *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Podosphaera*, *Puccinia*, *Pyrenophora*, *Pyricularia*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Scerotium*, *Sclerotinia*, *Septoria*, *Thielaviopsis*, *Uncinula*, *Venturia*, *Verticillium*, *Magnaporthe*, *Blumeria*, *Mycosphaerella*, *Ustilago*, *Melampsora*, *Phakospora*, *Monilinia*, *Mucor*, *Rhizopus* y *Aspergillus*.

En realizaciones particulares, las composiciones agroquímicas dadas a conocer aquí, contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo o un fragmento funcional de éste, que se une específicamente a un fitopatógeno, que es un fitopatógeno para vegetales elegidos del grupo compuesto por cereales, sorgo, arroz, remolacha azucarera, remolacha forrajera, frutas, frutas secas, la familia del plátano o las vides, cultivos de leguminosas, cultivos oleaginosos, cucurbitáceas, plantas fibrosas, cultivos destinados a combustible, hortalizas, plantas ornamentales, arbustos, árboles de hojas anchas, plantas perennes, pasturas, plantas de café, té, tabaco, lúpulo, pimienta, caucho y látex.

En ciertas realizaciones específicas, el al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo o un fragmento funcional de éste en las composiciones agroquímicas dadas a conocer aquí, está presente en una cantidad eficaz para proteger o tratar una planta o una parte de la planta de una infección u otra interacción biológica con el fitopatógeno, como por ejemplo, pero no exclusivamente, a la concentración del al menos un dominio variable de una cadena pesada en la composición agroquímica que varía entre 0.0001% y 50% en peso.

En otras realizaciones particulares, el al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo o un fragmento funcional de éste en las composiciones agroquímicas dadas a conocer en este documento, se formula en una solución acuosa, opcionalmente, pero no exclusivamente, junto con un portador agroquímicamente adecuado y/o uno o más adyuvantes adecuados.

Aún en otras realizaciones particulares, el al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo o un fragmento funcional de éste en las composiciones agroquímicas dadas a conocer, comprende al menos:

una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 85, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 169, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 253, o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 86, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 170, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 254, o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 87, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 171, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 255, o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 88, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 172, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 256, o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 89, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 173, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 257, o





una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 154, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 238, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 321, o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 155, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 239, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 322, o  
 5 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 156, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 240, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 323, o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 157, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 241, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 324, o  
 10 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 158, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 242, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 325, o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 159, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 243, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 326, o  
 15 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 160, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 244, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 327, o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 161, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 245, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 328, o  
 20 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 162, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 246, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 329, o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 163, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 247, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 330, o  
 25 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 164, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 248, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 331, o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 165, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 249, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 332, o  
 30 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 166, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 250, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 333, o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 167, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 251, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 334, o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 168, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 252, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 335.

En otras realizaciones, el al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo o un fragmento funcional de éste en las composiciones agroquímicas dadas a conocer aquí, contiene al menos una secuencia de aminoácidos, que tiene la secuencia elegida entre cualquiera de las SEC. ID N°: 1 a 84.

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona métodos para proteger o tratar una planta o una parte de una planta de una infección u otra interacción biológica con un fitopatógeno, donde los métodos comprenden al menos el paso de aplicar directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta, una composición agroquímica como las dadas a conocer en este documento, en condiciones eficaces para proteger o tratar la planta o una parte de la planta contra la infección o interacción biológica con el fitopatógeno.

En realizaciones particulares, estos métodos comprenden aplicar directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta una composición agroquímica como la dada a conocer aquí en una dosis de aplicación superior a 50 g de la composición agroquímica por hectárea, por ejemplo, pero no exclusivamente, una dosis de aplicación superior a 75 g de la composición agroquímica por hectárea, por ejemplo una dosis de aplicación superior a 100 g de la composición agroquímica por hectárea, o en particular una dosis de aplicación superior a 200 g de la composición agroquímica por hectárea.

En realizaciones particulares, estos métodos comprenden aplicar directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta una composición agroquímica como la dada a conocer aquí, en una dosis de aplicación entre 50 y 100 g de la composición agroquímica por hectárea, por ejemplo, pero no exclusivamente, una dosis de aplicación entre 50 g y 200 g de la composición agroquímica por hectárea, en particular una dosis de aplicación entre 75 g y 175 g de la composición agroquímica por hectárea, por ejemplo entre 75 g y 150 g de la composición agroquímica por hectárea o entre 75 g y 125 g por hectárea.

En realizaciones particulares, las composiciones agroquímicas dadas a conocer en este documento se aplican directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta mediante aspersión, atomización, aplicación de espuma, nebulización, cultivo en hidrocultivo, cultivo en hidroponía, recubrimiento, sumersión y/o incrustación, opcionalmente postcosecha.

Aún en otro aspecto, la presente divulgación proporciona métodos de tratamiento postcosecha para proteger o tratar una planta cosechada o una parte cosechada de la planta de una infección u otra interacción biológica con un fitopatógeno, que comprenden al menos el paso de aplicar directa o indirectamente a la planta cosechada o a la parte cosechada de la planta, una composición agroquímica como la dada a conocer en este documento, en condiciones eficaces para proteger o tratar la planta cosechada o una parte cosechada de la planta contra una infección o interacción biológica con el fitopatógeno.

Aún en otro aspecto, la presente divulgación proporciona el uso de una composición agroquímica como la dada a conocer aquí como un agente antiplaga. En realizaciones particulares, el agente antiplaga es un agente biostático, fungistático, pesticida y/o fungicida.

Aún en otro aspecto, la presente divulgación proporciona métodos de inhibición del crecimiento de un fitopatógeno o métodos de eliminación de un fitopatógeno, que comprenden al menos el paso de aplicar directa o indirectamente a una planta o a una parte de la planta, una composición agroquímica como la dada a conocer en este documento.

En realizaciones particulares de estos métodos, las composiciones agroquímicas dadas a conocer en este documento se aplican directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta mediante aspersión, atomización, aplicación de espuma, nebulización, cultivo en hidrocultivo, cultivo en hidroponía, recubrimiento, sumersión y/o incrustación, opcionalmente postcosecha.

Aún en otro aspecto, la presente divulgación proporciona métodos para producir una composición agroquímica como la dada a conocer en este documento, que comprenden al menos los pasos de:

obtener al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo ( $V_{HH}$  o  $V_H$ ) o un fragmento funcional de éste, que se una específicamente a un esfingolípidos de un fitopatógeno, y formular el dominio variable de la cadena pesada o el fragmento funcional de éste en una composición agroquímica.

En realizaciones particulares de estos métodos, el paso de obtener al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo ( $V_{HH}$  o  $V_H$ ) o un fragmento funcional de éste, que se una específicamente a un esfingolípidos de un fitopatógeno comprende:

- (a) expresar una secuencia de nucleótidos que codifique un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo o un fragmento funcional de éste, que se una específicamente a un esfingolípidos de un fitopatógeno y, opcionalmente,
- (b) aislar y/o purificar el dominio variable o el fragmento funcional de éste.

En realizaciones particulares de estos métodos, el paso de obtener al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo ( $V_{HH}$  o  $V_H$ ) o un fragmento funcional de éste, que se una específicamente a un esfingolípidos de un fitopatógeno comprende:

- a) proporcionar un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de  $V_{HH}$  o secuencias de  $V_H$  o secuencias de fragmentos funcionales de éstos;
- b) cribar el conjunto, la colección o la biblioteca de secuencias de  $V_{HH}$  o secuencias de  $V_H$  o secuencias de fragmentos funcionales de éstos, en busca de secuencias que se unan específicamente a, y/o tengan afinidad por, un esfingolípidos de un fitopatógeno, y opcionalmente
- c) aislar las secuencias de  $V_{HH}$  o secuencias de  $V_H$  o secuencias de fragmentos funcionales de éstos que se unan específicamente a, y/o tengan afinidad por, un esfingolípidos de un fitopatógeno.

#### Descripción detallada de la invención

La presente invención se describirá con respecto a realizaciones particulares pero la divulgación no se limita a ellas.

Los enunciados (características) y las realizaciones de los polipéptidos, las composiciones y los métodos dados a conocer en este documento se establecen a continuación. Cada uno de los enunciados y de las realizaciones dados a conocer en este documento así definidos, se puede combinar con cualquier otro enunciado y/o realización, a menos que se indique claramente lo contrario. En particular, cualquier característica indicada como preferida o ventajosa se puede combinar con cualquier otra característica o características indicadas como preferidas o ventajosas.

Los enunciados numerados como se dan a conocer en la presente solicitud son:

1. Una composición agroquímica para combatir plagas vegetales, que contiene al menos un polipéptido de 80 a 200 aminoácidos como principio activo.
2. Una composición agroquímica para combatir plagas vegetales, que contiene al menos un polipéptido de 80 a 200 aminoácidos como principio activo, donde el polipéptido está presente en una concentración de 0.01 a 50% (p/p) del peso total de la composición agroquímica.
3. La composición agroquímica de acuerdo con los enunciados 1 o 2, en la que el polipéptido se obtiene mediante selección por afinidad a un fitopatógeno específico que es la diana.

## ES 2 703 192 T3

4. La composición agroquímica de acuerdo con el enunciado 3, en la que el polipéptido tiene una afinidad por la diana con una constante de disociación inferior a  $10^{-6}$  M.
- 5 5. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 4, en la que el polipéptido contiene 3 CDR y 4 FR.
6. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 5 en la que el polipéptido se deriva de un anticuerpo de camélido.
- 10 7. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 6, en la que el polipéptido es un  $V_{HH}$ .
- 15 8. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 7, en la que la plaga vegetal es un hongo fitopatógeno.
9. Un método para combatir plagas vegetales, donde el método comprende aplicar a un cultivo la composición según cualquiera de los enunciados 1 a 8 en una dosis de aplicación superior a 50 g por hectárea del polipéptido contenido en la composición agroquímica.
- 20 10. El método para producir una composición agroquímica según cualquiera de los enunciados 1 a 8, que comprende formular un polipéptido de 80 a 200 aminoácidos con actividad pesticida junto con al menos un auxiliar agroquímico habitual.
- 25 11. Un polipéptido de 80 a 200 aminoácidos, obtenido mediante selección por afinidad a una plaga vegetal específica que es la diana, que es capaz de inhibir el crecimiento y/o la actividad de una plaga vegetal en una concentración inhibitoria mínima de aproximadamente 0.00001 a 1  $\mu$ M.
- 30 12. Una secuencia de ácido nucleico que codifica un polipéptido de acuerdo con el enunciado 11.
13. Un gen quimérico que comprende un promotor expresable en una planta, una secuencia de ácido nucleico de acuerdo con el enunciado 12 y un terminador de secuencia.
- 35 14. Un vector recombinante que comprende un gen quimérico del enunciado 13.
15. Una planta que contiene un gen quimérico como el definido en el enunciado 14.
- 40 16. Una composición agroquímica que contiene al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo ( $V_{HH}$  o  $V_H$ ) o un fragmento funcional de éste, que se une específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno.
- 45 17. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8, que contiene al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo ( $V_{HH}$  o  $V_H$ ) o un fragmento funcional de éste, que se une específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno.
- 50 18. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17, que contiene al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo de cadena pesada ( $V_{HH}$  o  $V_H$ ) o un fragmento funcional de éste, que se une específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno.
- 55 19. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8, 17 y 18, que contiene al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo de cadena pesada camélido ( $V_{HH}$  camélido) o un fragmento funcional de éste, que se une específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno.
20. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17, que contiene al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo convencional de cuatro cadenas camelizado ( $V_H$  camelizado) o un fragmento funcional de éste, que se une específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno.
- 60 21. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 20, en la que el esfingolípido es una ceramida.
22. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 21, en la que el esfingolípido es glucosilceramida.

23. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 22, en la que el fitopatógeno es un hongo fitopatógeno.

24. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 23, donde el género del hongo fitopatógeno se elige del grupo compuesto por *Alternaria*, *Ascochyta*, *Botrytis*, *Cercospora*, *Colletotrichum*, *Diplodia*, *Erysiphe*, *Fusarium*, *Leptosphaeria*, *Gaeumanomyces*, *Helminthosporium*, *Macrophomina*, *Nectria*, *Penicillium*, *Peronospora*, *Phoma*, *Phymatotrichum*, *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Podosphaera*, *Puccinia*, *Pyrenophora*, *Pyricularia*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Scerotium*, *Sclerotinia*, *Septoria*, *Thielaviopsis*, *Uncinula*, *Venturia*, *Verticillium*, *Magnaporthe*, *Blumeria*, *Mycosphaerella*, *Ustilago*, *Melampsora*, *Phakospora*, *Monilinia*, *Mucor*, *Rhizopus* y *Aspergillus*.

25. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 24, donde el fitopatógeno es un fitopatógeno para vegetales elegidos del grupo compuesto por cereales, sorgo, arroz, remolacha azucarera, remolacha forrajera, frutas, frutas secas, la familia del plátano o las vides, cultivos de leguminosas, cultivos oleaginosos, cucurbitáceas, plantas fibrosas, cultivos destinados a combustible, hortalizas, plantas ornamentales, arbustos, árboles de hojas anchas, plantas perennes, pasturas, plantas de café, té, tabaco, lúpulo, pimienta, caucho y látex.

26. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 25, donde al menos un dominio variable de una cadena pesada está presente en una cantidad eficaz para proteger o tratar una planta o una parte de la planta de una infección u otra interacción biológica con el fitopatógeno.

27. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 26, donde la concentración del al menos un dominio variable de una cadena pesada en la composición agroquímica varía entre 0.0001% y 50% en peso.

28. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 27, donde el al menos un dominio variable de una cadena pesada se formula en una solución acuosa.

29. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 28, que contiene además un portador agroquímicamente adecuado y/o uno o más adyuvantes adecuados.

30. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 29, donde el al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo contiene al menos una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 85, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 169, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 253, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 86, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 170, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 254, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 87, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 171, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 255, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 88, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 172, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 256, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 89, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 173, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 257, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 90, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 174, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 258, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 91, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 175, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 259, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 92, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 176, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 260, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 93, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 177, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 261, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 94, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 178, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 262, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 95, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 179, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 263, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 96, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 180, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 264, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 97, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 181, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 265, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 98, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 182, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 266, y/o una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 99, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 183, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 267, y/o





una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 164, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 248, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 331, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 165, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 249, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 332, y/o  
 5 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 166, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 250, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 333, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 167, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 251, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 334, y/o  
 10 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 168, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 252, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 335.

31. La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 30, donde el al menos un dominio variable de una cadena pesada comprende al menos una secuencia de aminoácidos elegida del grupo compuesto por las SEC. ID N°: 1 a 84.  
 15

32. Un método para proteger o tratar una planta o una parte de la planta de una infección u otra interacción biológica con un fitopatógeno, que comprende al menos el paso de aplicar directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 31, en condiciones eficaces para proteger o tratar la planta o una parte de la planta contra la infección o interacción biológica con el fitopatógeno.  
 20

33. Un método de acuerdo con el enunciado 9 para proteger o tratar una planta o una parte de la planta de una infección u otra interacción biológica con un fitopatógeno, que comprende al menos el paso de aplicar directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta, una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 31, en condiciones eficaces para proteger o tratar la planta o una parte de la planta contra la infección o interacción biológica con el fitopatógeno.  
 25

34. El método de acuerdo con cualquiera de los enunciados 9, 32 o 33, que comprende aplicar directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 31 en una dosis de aplicación superior a 50 g de la composición agroquímica por hectárea.  
 30

35. El método de acuerdo con cualquiera de los enunciados 9 a 32 y 34 donde la composición agroquímica se aplica directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta mediante aspersión, atomización, aplicación de espuma, nebulización, cultivo en hidrocultivo, cultivo en hidroponía, recubrimiento, sumersión y/o incrustación.  
 35

36. El método de acuerdo con cualquiera de los enunciados 9 o 32 a 35, donde la composición agroquímica se aplica directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta, opcionalmente postcosecha.  
 40

37. Un método de tratamiento postcosecha para proteger o tratar una planta cosechada o una parte cosechada de la planta de una infección u otra interacción biológica con un fitopatógeno, que comprende al menos el paso de aplicar directa o indirectamente a la planta cosechada o a una parte cosechada de la planta, una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 31, en condiciones eficaces para proteger o tratar la planta cosechada o una parte cosechada de la planta contra la infección o interacción biológica con el fitopatógeno.  
 45

38. El uso de una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 31 como un agente antiplaga.  
 50

39. El uso de acuerdo con el enunciado 38, donde el agente antiplaga es un biostático.

40. El uso de acuerdo con los enunciados 38 o 39, donde el agente antiplaga es un fungistático.

55 41. El uso de acuerdo con el enunciado 38, donde el agente antiplaga es un pesticida.

42. El uso de acuerdo con los enunciados 38 o 41, donde el agente antiplaga es un fungicida.

60 43. Un método de inhibición del crecimiento de un fitopatógeno, que comprende al menos el paso de aplicar directa o indirectamente a una planta o a una parte de la planta, una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 31.

44. Un método para matar un fitopatógeno, que comprende al menos el paso de aplicar directa o indirectamente a una planta o a una parte de la planta, una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los

enunciados 1 a 8 y 17 a 31.

45. El método de acuerdo los enunciados 43 o 44 donde la composición agroquímica se aplica directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta mediante aspersión, atomización, aplicación de espuma, nebulización, cultivo en hidrocultivo, cultivo en hidroponía, recubrimiento, sumersión y/o incrustación.

46. El método de acuerdo con cualquiera de los enunciados 43 a 45, donde la composición agroquímica se aplica directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta, opcionalmente postcosecha.

47. Un método para producir una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 31, que comprende al menos los pasos de:

obtener al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo ( $V_{HH}$  o  $V_H$ ) o un fragmento funcional de éste, que se una específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno, y formular el dominio variable o un fragmento funcional de éste en una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 31.

48. Un método de acuerdo con el enunciado 10, para producir una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 31, que comprende al menos los pasos de:

obtener al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo ( $V_{HH}$  o  $V_H$ ) o un fragmento funcional de éste, que se una específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno, y formular el dominio variable o un fragmento funcional de éste en una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de los enunciados 1 a 8 y 17 a 31.

49. El método de acuerdo con los enunciados 10, 47 o 48, donde el paso de obtener al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo o un fragmento funcional de éste que se una específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno comprende:

- (a) expresar una secuencia de nucleótidos que codifique un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo ( $V_{HH}$  or  $V_H$ ) o un fragmento funcional de éste, que se una específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno y, opcionalmente,
- (b) aislar y/o purificar el dominio variable o el fragmento funcional de éste.

50. El método de acuerdo con los enunciados 10, 47 o 48, donde el paso de obtener al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo o un fragmento funcional de éste que se una específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno comprende:

- a) proporcionar un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de dominios variables de cadena pesada o secuencias de fragmentos funcionales de éstos;
- b) cribar el conjunto, la colección o biblioteca de secuencias de dominios variables de cadena pesada o secuencias de fragmentos funcionales de éstos en busca de secuencias que se unan específicamente a, y/o tengan afinidad por, un esfingolípido de un fitopatógeno, y opcionalmente,
- c) aislar las secuencias de dominios variables o secuencias de fragmentos funcionales de éstos, que se unan específicamente a, y/o tengan afinidad por, un esfingolípido de un fitopatógeno.

#### DEFINICIONES

La presente divulgación se describirá con respecto a realizaciones particulares pero la divulgación no está limitada por ellas sino sólo por las reivindicaciones. Ningún signo de referencia en las reivindicaciones deberá interpretarse como una limitación del alcance.

Cuando, se utiliza la expresión "que comprende o que contiene" en la presente descripción y las reivindicaciones, no excluye otros elementos o pasos.

Cuando se utiliza un artículo determinado o indeterminado para referirse a un sustantivo singular, por ejemplo "un" o "una", "el" o "la", esto incluye el plural de ese sustantivo, a menos que se establezca expresamente algo diferente.

El término "aproximadamente" según se usa en este documento para referirse a un valor medible como un parámetro, una cantidad, una duración temporal, y similares, está pensado para abarcar variaciones de +/-10% o menos, preferentemente de +/-5% o menos, más preferentemente de +/-1% o menos, y aún más preferentemente +/-0.1% o menos de ese valor y desde el valor especificado, en la medida en que dichas variaciones sean adecuadas para poner en práctica en la divulgación. Se debe entender que el valor al que se refiere el modificador 'aproximadamente' también está específicamente, y preferentemente, divulgado.

Los términos o definiciones siguientes se proporcionan únicamente para ayudar a la comprensión de la divulgación. A menos que se definan específicamente en este documento, todos los términos utilizados en este documento tienen el mismo significado que tendrían para un experto en el área de la presente divulgación. A los profesionales se les indican particularmente Sambrook et al., *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, 2da ed., Cold Spring Harbor Press, Plainsview, Nueva York (1989); y Ausubel et al., *Current Protocols in Molecular Biology* (Suplemento47), John Wiley & Sons, Nueva York (1999), por definiciones y términos del área.

A menos que se indique lo contrario, todos los métodos, pasos, técnicas y manipulaciones que no están específicamente descritos en detalle se pueden llevar a cabo y se han realizado en una forma conocida per se, como será evidente para el experto en la materia. Se hace referencia nuevamente, por ejemplo, a los manuales estándar, a la información general sobre la materia mencionada antes y a las otras referencias citadas en este documento.

Según se usan en este documento, las expresiones "polipéptido", "proteína", "péptido" y "secuencia de aminoácidos" son intercambiables, y se refieren a una forma polimérica de aminoácidos de cualquier longitud, que pueden incluir aminoácidos codificados y no codificados, o aminoácidos química o bioquímicamente modificados o derivatizados y polipéptidos que tienen esqueletos peptídicos modificados.

Según se usa en este documento, los residuos de aminoácidos se indicarán por su nombre completo o según el código de aminoácidos estándar de tres letras o de una letra.

Según se usa en este documento, las expresiones "molécula de ácido nucleico", "polinucleótido", "ácido polinucleico" y "ácido nucleico" son intercambiables, y se refieren a una forma polimérica de nucleótidos de cualquier longitud, ya sea desoxirribonucleótidos o ribonucleótidos o sus análogos. Los polinucleótidos pueden tener cualquier estructura tridimensional, y pueden realizar cualquier función, conocida o desconocida. Los ejemplos no limitantes de polinucleótidos incluyen un gen, un fragmento de un gen, exones, intrones, ARN mensajero (ARNm), ARN de transferencia, ARN ribosómico, ribozimas, ADNc, polinucleótidos recombinantes, polinucleótidos ramificados, plásmidos, vectores, ADN aislado de cualquier secuencia, regiones de control, ARN aislado de cualquier secuencia, sondas de ácidos nucleicos, y cebadores. La molécula de ácido nucleico puede ser lineal o circular.

Según se usa en este documento, el término "homología" indica al menos una similitud estructural secundaria entre dos macromoléculas, particularmente entre dos polipéptidos o polinucleótidos, del mismo o diferentes taxones, donde dicha similitud se debe a la ascendencia compartida. Por lo tanto, el término "homólogos" indica macromoléculas relacionadas de ese modo que tienen dicha similitud estructural secundaria y opcionalmente terciaria. Para comparar dos o más secuencias de nucleótidos, se puede calcular el '(porcentaje) de identidad de secuencia' entre una primera secuencia de nucleótidos y una segunda secuencia de nucleótidos utilizando métodos conocidos por los expertos en la materia, por ejemplo, dividiendo el número de nucleótidos de la primera secuencia de nucleótidos que son idénticos a los nucleótidos en las posiciones correspondientes de la segunda secuencia de nucleótidos, entre el número total de nucleótidos de la primera secuencia de nucleótidos y multiplicando por 100%, o utilizando un algoritmo informático conocido para la alineación de secuencias como NCBI Blast. Al determinar el grado de identidad de secuencia entre dos secuencias de aminoácidos, el experto en la materia puede tener en cuenta las denominadas sustituciones de aminoácidos "conservadoras", que generalmente se pueden describir como sustituciones de aminoácidos en las cuales un residuo de aminoácido es reemplazado por otro residuo de aminoácido de estructura química similar y que básicamente tiene poca o ninguna influencia sobre la función, actividad u otras propiedades biológicas del polipéptido. Las posibles sustituciones de aminoácidos conservadoras resultarán evidentes para los expertos en la materia. Se dice que las secuencias de aminoácidos y las secuencias de ácido nucleico son "exactamente la misma" si tienen un 100% de identidad de secuencia en toda su longitud.

Según se usa en este documento, las expresiones "región determinante de complementariedad" o "CDR" en el contexto de los anticuerpos se refiere a las regiones variables de las cadenas H (pesada) o L (ligera) (también abreviadas como VH y VL, respectivamente) y contienen las secuencias de aminoácidos capaces de unirse específicamente a dianas antigénicas. Estas regiones CDR dan razón de la especificidad básica del anticuerpo por una estructura determinante antigénica particular. Tales regiones también se denominan "regiones hipervariables". Las CDR representan tramos no contiguos de aminoácidos dentro de las regiones variables pero, independientemente de la especie, se encontró que las ubicaciones posicionales de estas secuencias de aminoácidos críticos dentro de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera, tienen ubicaciones similares dentro de las secuencias de aminoácidos de las cadenas variables. Las cadenas variables pesada y ligera de todos los anticuerpos canónicos tienen 3 CDR cada una, cada una no contigua con las otras (denominadas L1, L2, L3, H1, H2, H3) para las respectivas cadenas ligera (L) y pesada (H). El término "afinidad", según se usa en este documento, se refiere al grado en que un polipéptido, en particular una inmunoglobulina, como un anticuerpo, o un fragmento de inmunoglobulina, como VHH, se une a un antígeno para desplazar el equilibrio del antígeno y el polipéptido hacia la presencia de un complejo formado por su unión. Así, por ejemplo, cuando un antígeno y un anticuerpo (fragmento) se combinan en una concentración relativamente igual, un anticuerpo (fragmento) de alta afinidad se unirá al antígeno disponible de modo de desplazar el equilibrio hacia la alta concentración del complejo resultante. La constante de disociación se emplea comúnmente para describir la afinidad entre el dominio de unión

de la proteína y la diana antigénica. Normalmente, la constante de disociación es inferior a  $10^{-5}$  M. Preferentemente, la constante de disociación es inferior a  $10^{-6}$  M, más preferentemente, inferior a  $10^{-7}$  M. Muy preferentemente, la constante de disociación es inferior a  $10^{-8}$  M.

Las expresiones "se une específicamente" y "unión específica", según se usan en este documento, se refieren generalmente a la capacidad de un polipéptido, en particular una inmunoglobulina, como un anticuerpo, o a un fragmento de inmunoglobulina, como VHH, para unirse preferencialmente a un antígeno particular que está presente en una mezcla homogénea de diferentes antígenos. En ciertas realizaciones, una interacción de unión específica discriminará entre antígenos deseables e indeseables en una muestra, en algunas realizaciones más de aproximadamente 10 a 100 veces o más (por ejemplo, más de aproximadamente 1000 o 10 000 veces).

Consecuentemente, se dice que una secuencia de aminoácidos, como la dada a conocer en este documento se une "específicamente" a una diana particular cuando esa secuencia de aminoácidos tiene afinidad por, especificidad por, y/o está específicamente dirigida contra, esa diana (o por lo menos un fragmento o una parte de ésta).

La "especificidad" de una secuencia de aminoácidos, como la dada a conocer en este documento se puede determinar basándose en la afinidad y/o avidéz.

Una secuencia de aminoácidos, como la dada a conocer en este documento, se dice que es "específica para un primer antígeno diana de interés por oposición a un segundo antígeno diana de interés" cuando se une al primer antígeno diana de interés con una afinidad que es al menos 5 veces, como al menos 10 veces, como al menos 100 veces, y preferentemente al menos 1000 veces mayor que la afinidad con la que esa secuencia de aminoácidos, como la dada a conocer en este documento se une al segundo antígeno diana de interés. En consecuencia, en algunas realizaciones, cuando una secuencia de aminoácidos, como la dada a conocer en este documento, se dice que es "específica para" un primer antígeno diana de interés frente a un segundo antígeno diana de interés, se puede unir específicamente (según se definió en este documento) al primer antígeno diana de interés, pero no al segundo antígeno diana de interés.

Según se usan en este documento, los términos "inhibir", "reducir" y/o "prevenir" se pueden referir a (el uso de) una secuencia de aminoácidos como la dada a conocer aquí que se une específicamente a un antígeno diana de interés e inhibe, reduce y/o previene la interacción entre ese antígeno diana de interés y su pareja de unión natural. Los términos "inhibir", "reducir" y/o "prevenir" también se pueden referir a (el uso de) una secuencia de aminoácidos como la dada a conocer aquí que se une específicamente a un antígeno diana de interés e inhibe, reduce y/o impide una actividad biológica de ese antígeno diana de interés, según se mide utilizando ensayos adecuados *in vitro*, celulares o *in vivo*. Por lo tanto, "inhibir", "reducir" y/o "prevenir" también se pueden referir a (el uso de) una secuencia de aminoácidos como la dada a conocer aquí que se une específicamente a un antígeno diana de interés e inhibe, reduce y/o previene uno o más mecanismos, efectos, respuestas, vías de funciones o actividades, biológicos o fisiológicos, en los que el antígeno diana de interés está implicado. Tal acción de la secuencia de aminoácidos como la dada a conocer aquí, como un antagonista, se puede determinar de cualquier manera adecuada y/o empleando cualquier ensayo adecuado (*in vitro* y generalmente celular o *in vivo*) conocido en el área, dependiendo del antígeno diana de interés.

Por lo tanto, más particularmente, "inhibir", "reducir" y/o "prevenir" utilizando la secuencia de aminoácidos como la dada a conocer en este documento, puede significar inhibir, reducir y/o prevenir la interacción entre un antígeno diana de interés y su pareja de unión natural, o bien, inhibir, reducir y/o prevenir la actividad de un antígeno diana de interés, o bien, inhibir, reducir y/o prevenir uno o más mecanismos, efectos, respuestas, vías de funciones o actividades, biológicos o fisiológicos, en las que el antígeno diana de interés participa, por ejemplo, en al menos 10%, pero preferentemente en al menos 20%, por ejemplo, en al menos 50%, al menos 60%, al menos 70%, al menos 80%, al menos 90%, al menos 95% o más, según se mide empleando ensayos adecuados *in vitro*, celulares o *in vivo*, en comparación con la actividad del antígeno diana de interés en el mismo ensayo en las mismas condiciones pero sin usar la secuencia de aminoácidos como la dada a conocer en este documento. Además, "inhibir", "reducir" y/o "prevenir" puede también significar inducir una disminución en la afinidad, la avidéz, la especificidad y/o la selectividad de un antígeno diana de interés por una o más de sus parejas de unión naturales y/o inducir una disminución en la sensibilidad del antígeno diana de interés para una o más condiciones en el medio o el entorno en el que el antígeno diana de interés está presente (como pH, fuerza iónica, presencia de cofactores, etc.), en comparación con las mismas condiciones pero sin la presencia de la secuencia de aminoácidos como la dada a conocer en este documento. En el contexto de la presente divulgación, "inhibir", "reducir" y/o "prevenir" también puede implicar la inhibición, reducción y/o la prevención alostéricas de la actividad de un antígeno diana de interés.

La inhibición o el antagonismo de la actividad, o la potenciación o el agonismo de la actividad, de una secuencia de aminoácidos como la dada a conocer aquí, pueden ser reversibles o irreversibles, pero para aplicaciones de agroquímicos ocurrirá de forma reversible.

Una secuencia de aminoácidos, como la dada a conocer en este documento se considera que está "(en) (forma) esencialmente aislada" según se usa aquí, cuando ha sido extraída o purificada de la célula huésped y/o del medio en el que se produce.

Con respecto a las secuencias de aminoácidos como las dadas a conocer en este documento, las expresiones

"región de unión", "sitio de unión" o "sitio de interacción" presentes en las secuencias de aminoácidos como las dadas a conocer aquí, tendrán el significado de un sitio, una región, un locus, una parte o un dominio particular, presente en la molécula diana, donde ese sitio, esa región, ese locus, esa parte o ese dominio particular, es responsable de la unión a esa molécula diana. Esa región de unión, por lo tanto, consta esencialmente de ese sitio, esa región, ese locus, esa parte, o ese dominio particular de la molécula diana, que está en contacto con la secuencia de aminoácidos, cuando está unida a esa molécula diana.

"Vegetal o planta" tal como se usa aquí, significa plantas vivas y partes de plantas vivas, incluidas frutas frescas, hortalizas y semillas. Asimismo, el término "planta o vegetal" según se usa en este documento abarca plantas enteras, progenitores y progenie de las plantas y partes de las plantas, que incluyen semillas, brotes, tallos, hojas, raíces (incluidos los tubérculos), flores y tejidos y órganos, donde cada uno de los mencionados previamente contiene el gen/ácido nucleico de interés. El término "planta o vegetal" también abarca células vegetales, cultivos en suspensión, tejido de callo, embriones, regiones meristemáticas, gametofitos, esporofitos, polen y microsporas, nuevamente, donde cada uno de los mencionados previamente contiene el gen/ácido nucleico de interés.

La elección de las plantas de control adecuadas es una parte rutinaria de un plan experimental y puede incluir a las plantas correspondientes de tipo silvestre o las plantas correspondientes sin el gen de interés. La planta de control suele ser de la misma especie vegetal o incluso de la misma variedad que la planta a ser evaluada. La planta de control puede ser también un nulicigoto de la planta a ser evaluada. Los nulicigotos son individuos que carecen del transgén por segregación. Una "planta de control" según se usa en este documento se refiere no sólo a las plantas enteras, sino también a partes de la planta, incluidas las semillas y partes de semillas.

"Cultivo" según se usa en este documento significa una especie o variedad de planta que se cultiva para ser cosechada como alimento, forraje, combustible o para cualquier otra finalidad económica. Como ejemplo no limitante, dichos cultivos pueden ser maíz, cereales, como trigo, centeno, cebada y avena, sorgo, arroz, remolacha azucarera y remolacha forrajera, frutas, como las frutas pomáceas (por ejemplo, manzanas y peras), cítricos (por ejemplo, naranjas, limones, limas, pomelos o mandarinas), frutas de hueso (por ej. melocotones, nectarinas o ciruelas), frutos secos (por ej. almendras o avellanas), fruta blanda (por ej. cerezas, fresas, moras o frambuesas), la familia del plátano o la vid, cultivos de leguminosas, como frijoles, lentejas, arvejas y soja, oleaginosas, como girasol, cártamo, colza, canola, ricino o aceitunas, cucurbitáceas, como pepinos, melones o calabazas, plantas fibrosas, como algodón, lino o cáñamo, cultivos destinados a combustible, como caña de azúcar, miscanto o pasto varilla, hortalizas como patatas, tomates, pimientos, lechuga, espinaca, cebollas, zanahorias, berenjenas, espárragos o repollo, plantas ornamentales, como flores (por ej. petunias, pelargonios, rosas, tulipanes, lirios o crisantemos), arbustos, árboles de hoja ancha (por ejemplo, chopos o sauces) y plantas perennes (p. ej., coníferas), hierbas, como pastos, césped o pasto de forraje u otras plantas útiles, tales como plantas de café, té, tabaco, lúpulo, pimienta, caucho o látex.

Una "plaga", según se usa en este documento, es un organismo que es perjudicial para las plantas, los animales, los seres humanos o las preocupaciones humanas, e incluye, pero no exclusivamente las plagas vegetales (definidas más adelante), las plagas domésticas, como las cucarachas, hormigas, etc., y los vectores de enfermedades, como los mosquitos transmisores del paludismo.

Una "plaga vegetal", un "fitopatógeno" o una "plaga de cultivos", según se utilizan indistintamente en la solicitud, se refieren a organismos que causan específicamente daño a plantas, partes de plantas o productos vegetales, especialmente plantas, partes de plantas o productos vegetales utilizados en agricultura. Tenga en cuenta que la expresión "plaga vegetal" o "plaga de cultivos" se usa en el sentido de que la plaga ataca y daña a las plantas. Las plagas pertenecen en particular a los animales invertebrados (por ejemplo, insectos (incluidos insectos que son plagas agrícolas, insectos que son plagas de plantas ornamentales, insectos que son plagas de bosques). Los ejemplos pertinentes de plagas de cultivos incluyen, pero no exclusivamente, áfidos, orugas, moscas, avispas y similares, nematodos (que viven libremente en el suelo o particularmente especies que parasitan las raíces de las plantas, como el nematodo de los nudos de la raíz y los nematodos formadores de quistes como el nematodo de los quistes de la soja y el nematodo de los quistes de la patata), ácaros (como ácaros araña, ácaros blancos y eriófidios) y gastrópodos (que incluyen babosas como *Deroceas* spp., *Milax* spp., *Tandonia* sp., *Limax* spp., *Arion* spp., y *Veronicella* spp. y caracoles como *Helix* spp., *Cernuella* spp., *Theba* spp., *Cochlicella* spp., *Achatina* spp., *Succinea* spp., *Ovachlamys* spp., *Amphibulima* spp., *Zachrysis* spp., *Bradybaena* spp. Y *Pomacea* spp. ), hongos patógenos (que incluyen Ascomycetos (como *Fusarium* spp., *Thielaviopsis* spp., *Verticillium* spp., *Magnaporthe* spp.), Basidiomicetos (como *Rhizoctonia* spp., *Phakospora* spp., *Puccinia* spp.), y pseudohongos Oomicetos (como *Pythium* spp. y *Phytophthora* spp.), bacterias (como *Burkholderia* spp. y Proteobacterias como *Xanthomonas* spp. y *Pseudomonas* spp.), *Phytoplasma*, *Spiroplasma*, virus (como el virus del mosaico del tabaco y el virus del mosaico de la coliflor) y protozoos.

"Microbio", según se usa en este documento, significa bacterias, virus, hongos, levaduras y similares y "microbiano" significa derivado de un microbio.

"Hongo", según se usa en este documento, significa un organismo eucariota, perteneciente al grupo de los Eumycota. El término hongo en la presente divulgación también incluye organismos pseudohongos como la Oomicota. Oomicota (u oomicetos) forman un linaje filogenético distinto de microorganismos eucariotas

pseudohongos. Este grupo fue clasificado originalmente entre los hongos pero nuevas percepciones respaldan una relación relativamente estrecha con los organismos fotosintéticos como algas pardas y diatomeas, dentro del grupo de los heterocontos.

5 "Infección con plaga" o "enfermedad por plaga", según se usan en este documento, se refieren a cualquier afección, enfermedad o trastorno inflamatorio en un organismo vivo, como una planta, un animal o un ser humano, que es causado por una plaga.

10 "Infección fúngica" o "enfermedad fúngica" según se usan en este documento se refieren a cualquier afección, enfermedad o trastorno inflamatorio en un organismo vivo, como una planta, un animal un ser humano, que es causado por un hongo.

15 "Sustancia activa", "ingrediente activo" o "principio activo", según se usan indistintamente en este documento, significan cualquier elemento biológico, bioquímico o químico y sus derivados, fragmentos o compuestos basados en él, incluidos los microorganismos, que tienen una acción general o específica sobre los organismos nocivos en un sujeto, y en particular en las plantas, partes de plantas o en productos vegetales, como aparecen naturalmente o por fabricación, incluidas todas las impurezas que resultan inevitablemente del proceso de fabricación.

20 "Agroquímica", según se usa en este documento, significa adecuada para utilizar en la industria agroquímica (que incluye la agricultura, la horticultura, la floricultura y los usos en el hogar y el jardín, pero también los productos destinados a usos no relacionados con el cultivo, como el uso de los operadores de salud pública/control de plagas para controlar insectos y roedores indeseables, usos domésticos, como fungicidas e insecticidas y agentes para proteger plantas o partes de plantas, cultivos, bulbos, tubérculos, frutas (por ejemplo, de organismos dañinos, enfermedades o plagas); para controlar, preferentemente promover o aumentar, el crecimiento de las plantas; y/o para promover el rendimiento de las plantas, los cultivos o las partes de las plantas que se cosechan (por ejemplo, sus frutos, flores, semillas, etc.). Los ejemplos de dichas sustancias serán claros para el experto en la materia y pueden incluir, por ejemplo, compuestos que son activos como insecticidas (por ejemplo, insecticidas de contacto o insecticidas sistémicos, incluidos los insecticidas para uso doméstico), herbicidas (por ejemplo, herbicidas de contacto o herbicidas sistémicos, incluidos los herbicidas para uso doméstico), fungicidas (por ejemplo, fungicidas de contacto o fungicidas sistémicos, incluidos los fungicidas para uso doméstico), nematocidas (por ejemplo, nematocidas de contacto o nematocidas sistémicos, incluidos los nematocidas para uso doméstico) y otros pesticidas o biocidas (por ejemplo, agentes para matar insectos o caracoles); así como fertilizantes; reguladores del crecimiento como hormonas vegetales; micronutrientes, protectores, feromonas; repelentes; cebos para insectos; y/o principios activos que se utilizan para modular (es decir, aumentar, disminuir, inhibir, mejorar y/o desencadenar) la expresión génica (y/u otros procesos biológicos o bioquímicos) en o por la planta destinataria (por ejemplo, la planta que se va a proteger o la planta que se va a controlar), como los ácidos nucleicos (p. ej., ARN monocatenario o bicatenario, como se utiliza, por ejemplo, en el contexto de la tecnología del ARNi) y otros factores, proteínas, productos químicos, etc., conocidos per se para este fin, etc. Los ejemplos de tales agroquímicos serán claros para el experto en la materia; e, incluyen, por ejemplo, sin limitación: glifosato, paraquat, metolacoloro, acetocloro, mesotriona, 2,4-D, atrazina, glufosinato, sulfosato, fenoxaprop, pendimetalina, picloram, trifluralina, bromoxinilo, clodinafop, fluroxipir, nicosulfurón, bensulfurón, imazetapir, dicamba, imidacloprid, tiametoxam, fipronil, clorpirifos, deltametrina, lambda-cihalotrina, endosulfán, metamidofos, carbofurano, clotianidina, cipermetrina, abamectina, diflufenican, spinosad, indoxacarb, bifentrina, teflutrina, azoxistrobina, tiametoxam, tebuconazol, mancozeb, ciazofamida, fluzinam, piraclostrobina, epoxiconazol, clorotalonil, fungicidas de cobre, trifloxistrobina, prothioconazol, difenoconazol, carbendazim, propiconazol, tiofanato, azufre, boscalid y otros productos agroquímicos conocidos o cualquier combinación adecuada de los mismos.

50 Una "composición agroquímica" según se usa en este documento, significa una composición para uso agroquímico, tal como se define más adelante, que comprende al menos una sustancia activa, opcionalmente con uno o más aditivos que favorecen óptimas dispersión, atomización, deposición, humectación foliar, distribución, retención y/o absorción de agroquímicos. Quedará claro de la descripción más detallada en este documento que una composición agroquímica según se usa aquí incluye agentes de control biológico o pesticidas biológicos (incluidos pero no exclusivamente agentes biológicos, biocidas, biostáticos, fungistáticos y fungicidas) y estos términos se utilizarán indistintamente en la presente solicitud. En consecuencia, una composición agroquímica según se usa en este documento incluye composiciones que contienen al menos una molécula biológica como ingrediente, sustancia o principio activo para el control de plagas en las plantas o en otros entornos relacionados con el agro (como por ejemplo en el suelo). Los ejemplos no limitantes de moléculas biológicas que se usan como principios activos en las composiciones agroquímica dadas a conocer en este documento son proteínas (incluidos anticuerpos y sus fragmentos, como, pero no exclusivamente fragmentos de dominio variable de una cadena pesada de anticuerpos, incluidos los VHH), secuencias de ácidos nucleicos, (poli-)sacáridos, lípidos, vitaminas, hormonas, glucolípidos, esteroides y glicerolípidos.

60 Como ejemplo no limitante, los aditivos en las composiciones agroquímicas dadas a conocer en este documento pueden incluir, pero no exclusivamente, diluyentes, solventes, adyuvantes, surfactantes, humectantes, agentes de esparcimiento, aceites, adhesivos, espesantes, penetrantes, tampones, acidificantes, agentes antisedimentación,

anticongelantes, fotoprotectores, despumantes, biocidas y/o agentes de control de la deriva.

Una "composición biostática" o un "agente biostático" según se usan en este documento significan cualquier ingrediente, sustancia o principio activo, o una composición que contiene cualquier ingrediente, sustancia o principio activo para el uso biostático (como se define en más detalle en este documento) que contiene al menos una sustancia o ingrediente activo biostático, opcionalmente combinado con uno o más aditivos, lo que favorece óptimas dispersión, atomización, deposición, humectación foliar, distribución, retención y/o absorción de la sustancia o ingrediente activo. Como ejemplos no limitantes, dichos aditivos son diluyentes, solventes, adyuvantes, surfactantes (iónicos), humectantes, agentes de esparcimiento, aceites, adhesivos, espesantes, penetrantes, tampones, acidificantes, agentes antisedimentación, anticongelantes, fotoprotectores, despumantes, biocidas, inhibidores de proteasas y/o agentes de control de la deriva.

Una "composición biocida" o un "agente biocida" según se usan en este documento significan cualquier ingrediente, sustancia o principio activo, o una composición que contiene cualquier ingrediente, sustancia o principio activo para el uso biocida (según se define más detalladamente en este documento) que contiene al menos una sustancia o ingrediente activo biocida, opcionalmente combinado con uno o más aditivos lo que favorece óptimas dispersión, atomización, deposición, humectación foliar, distribución, retención y/o absorción de la sustancia o ingrediente activo. Como ejemplos no limitantes dichos aditivos son diluyentes, solventes, adyuvantes, surfactantes (iónicos), humectantes, agentes de esparcimiento, aceites, adhesivos, espesantes, penetrantes, tampones, acidificantes, agentes antisedimentación, anticongelantes, fotoprotectores, despumantes, biocidas, inhibidores de proteasas y/o agentes de control de la deriva.

Una "composición fungistática" o un "agente fungistático" según se usan en este documento significan cualquier ingrediente, sustancia o principio activo, o una composición que contiene cualquier ingrediente, sustancia o principio activo para el uso fungistático (como se define en más detalle en este documento) que contiene al menos una sustancia o ingrediente activo fungistático, opcionalmente combinado con uno o más aditivos lo que favorece óptimas dispersión, atomización, deposición, humectación foliar, distribución, retención y/o absorción de la sustancia o ingrediente activo. Como ejemplos no limitantes, dichos aditivos son diluyentes, solventes, adyuvantes, surfactantes (iónicos), humectantes, agentes de esparcimiento, aceites, adhesivos, espesantes, penetrantes, tampones, acidificantes, agentes antisedimentación, anticongelantes, fotoprotectores, despumantes, biocidas, inhibidores de proteasas y/o agentes de control de la deriva.

Una "composición fungicida" o un "agente fungicida" según se usan en este documento significan cualquier ingrediente, sustancia o principio activo, o una composición que contiene cualquier ingrediente, sustancia o principio activo para el uso fungicida (como se define en más detalle en este documento) que contiene al menos una sustancia o ingrediente activo fungicida, opcionalmente combinado con uno o más aditivos lo que favorece óptimas dispersión, atomización, deposición, humectación foliar, distribución, retención y/o absorción de la sustancia o ingrediente activo. Como ejemplos no limitantes, dichos aditivos son diluyentes, solventes, adyuvantes, surfactantes (iónicos), humectantes, agentes de esparcimiento, aceites, adhesivos, espesantes, penetrantes, tampones, acidificantes, agentes antisedimentación, anticongelantes, fotoprotectores, despumantes, biocidas, inhibidores de proteasas y/o agentes de control de la deriva.

"Uso agroquímico", según se usa en este documento, no sólo incluye el uso de agroquímicos según se definieron antes (por ejemplo, pesticidas, reguladores del crecimiento, nutrientes/fertilizantes, repelentes, desfoliantes, etc.) que son adecuados y/o han sido diseñados para usar en cultivos de campo (por ejemplo, agricultura), sino que también incluye el uso de agroquímicos, según se definieron antes (por ejemplo, pesticidas, reguladores del crecimiento, nutrientes/fertilizantes, repelentes, desfoliantes, etc.) que están pensados para utilizar en cultivos de invernadero (p. ej., horticultura/floricultura) o sistemas de cultivo hidropónico, e incluso el uso de productos agroquímicos según se definieron antes que son adecuados y/o están destinados a usos no en cultivos, como usos en jardines privados, usos domésticos (por ejemplo, herbicidas o insecticidas para uso doméstico), o usos por operadores de control de plagas (por ejemplo, control de malezas, etc.).

"(Efecto) biostático" o "uso biostático", según se usan en este documento, incluyen todos los efectos o usos de una sustancia activa (opcionalmente contenida en una composición biostática, biocida, fungicida o fungistática como las definidas en este documento) para controlar, modular o interferir con la actividad perjudicial de una plaga, como una plaga vegetal o un fitopatógeno, que incluye, pero no exclusivamente, inhibir el crecimiento o la actividad de la plaga, alterar el comportamiento de la plaga, y repeler o atraer las plagas en plantas, partes de plantas o en otros entornos relacionados con el agro, como por ejemplo para usos domésticos o en el suelo.

"(Efecto) biocida" o "uso biocida", según se usan en este documento, incluye todos los efectos o usos de una sustancia activa (opcionalmente contenida en una composición biocida o fungicida, como las definidas en este documento), para controlar, modular o interferir con la actividad perjudicial de una plaga, como una plaga vegetal o un fitopatógeno, que incluye, pero no exclusivamente, matar la plaga, inhibir el crecimiento o la actividad de la plaga, alterar el comportamiento de la plaga, y repeler o atraer la plaga en plantas, partes de plantas o en otros entornos relacionados con el agro, como por ejemplo para usos domésticos o en el suelo.

5 "(Efecto) fungistático" o "uso fungistático", según se usan en este documento, incluyen todos los efectos o usos de una sustancia activa (opcionalmente contenida en una composición fungicida o fungistática como las definidas en este documento) para controlar, modular o interferir con la actividad perjudicial de un hongo, que incluye, pero no exclusivamente, inhibir el crecimiento o la actividad del hongo, alterar el comportamiento del hongo, y repeler o atraer el hongo en plantas, partes de plantas o en entornos relacionados con el agro, como por ejemplo para usos domésticos o en el suelo.

10 "(Efecto) fungicida" o "uso fungicida", según se usan en este documento, incluyen todos los efectos o usos de una sustancia activa (opcionalmente contenido en una composición fungicida como la definida en este documento) para controlar, modular o interferir con la actividad perjudicial de un hongo, que incluye, pero no exclusivamente, matar el hongo, inhibir el crecimiento o la actividad del hongo, alterar el comportamiento del hongo, y repeler o atraer las plagas en las plantas, partes de plantas o en otros ambientes relacionados con el agro, como por ejemplo para usos domésticos o en el suelo.

15 "Actividad pesticida" o "actividad biocida", según se usan indistintamente en este documento, significan interferir con la actividad perjudicial de una plaga, que incluye, pero no exclusivamente, matar la plaga, inhibir el crecimiento o la actividad de la plaga, alterar el comportamiento de la plaga, repeler o atraer la plaga.

20 "Actividad biostática", según se usa en este documento, significa interferir con la actividad perjudicial de una plaga, que incluye, pero no exclusivamente, inhibir el crecimiento o la actividad de la plaga, alterar el comportamiento de la plaga, repeler o atraer la plaga.

25 La actividad pesticida, biocida o biostática de un ingrediente, sustancia o principio activo, o de una composición o agente que contiene un ingrediente, sustancia o principio activo pesticida, biocida o biostático, se puede expresar como la actividad inhibitoria mínima (CMI) de un agente (expresada en unidades de concentración, como, por ejemplo, mg/mL), sin embargo sin restringirse a ello.

30 "Actividad fungicida", según se usa en este documento, significa interferir con la actividad perjudicial de un hongo, que incluye, pero no exclusivamente, matar el hongo, inhibir el crecimiento o la actividad del hongo, alterar el comportamiento del hongo, y repeler o atraer el hongo.

35 "Actividad fungistática", según se usa en este documento, significa interferir con la actividad perjudicial de un hongo, que incluye, pero no exclusivamente, inhibir el crecimiento o la actividad del hongo, alterar el comportamiento del hongo, y repeler o atraer el hongo.

La actividad fungicida o fungistática de un ingrediente, sustancia o principio activo, o de una composición o agente que contiene un ingrediente, sustancia o principio activo biocida o biostático, se puede expresar como la actividad inhibitoria mínima (CMI) de un agente (expresada en unidades de concentración, como, por ejemplo, mg/mL), sin embargo sin restringirse a ello.

40 Un "portador", según se usa en este documento significa cualquier portador sólido, semisólido o líquido dentro o sobre el cual una sustancia activa puede ser incorporada, incluida, inmovilizada, adsorbida, absorbida, unida, encapsulada, empotrada, adjuntada o contenida. Los ejemplos no limitantes de dichos portadores incluyen nanocápsulas, microcápsulas, nanoesferas, microesferas, nanopartículas, micropartículas, liposomas, vesículas, perlas, un gel, partículas de resina iónica débil, liposomas, vehículos de liberación cocleados, gránulos pequeños, granulados, nanotubos, buckyballs, gotas de agua que forman parte de una emulsión de agua en aceite, gotas de aceite que son parte de una emulsión de aceite en agua, materiales orgánicos como corcho, madera u otros materiales de origen vegetal (por ejemplo, en forma de cáscaras de semillas, virutas de madera, pulpa, esferas, perlas, hojas o de cualquier otra forma apropiada), papel o cartón, materiales inorgánicos como talco, arcilla, celulosa microcristalina, sílice, alúmina, silicatos y zeolitas, o incluso células microbianas (como células de levadura) o fracciones o fragmentos adecuados de éstos.

55 Según se usa en este documento, el término "anticuerpo" se refiere a anticuerpos policlonales, anticuerpos monoclonales, anticuerpos humanizados, anticuerpos de una sola cadena y fragmentos de éstos, tales como Fab, F(ab')<sub>2</sub>, Fv, y otros fragmentos que conservan la función de unión al antígeno del anticuerpo precursor. Como tal, un anticuerpo se puede referir a una inmunoglobulina o glucoproteína, o a un fragmento o una porción de éstas, o a una construcción compuesta por una porción de unión al antígeno dentro de un marco tipo inmunoglobulina modificado, o a una porción de unión al antígeno contenida en una construcción compuesta por un marco de tipo no inmunoglobulina o andamio.

60 Según se usa en este documento, la expresión "anticuerpo monoclonal" se refiere a una composición de anticuerpo que tiene una población homogénea de anticuerpos. La expresión no está limitada con respecto a la especie o la fuente del anticuerpo, ni tampoco pretende ser limitada por la manera en la cual se hace. La expresión abarca inmunoglobulinas enteras así como fragmentos tales como Fab, (Fab')<sub>2</sub>, FV, y otros que conservan la función de

unión al antígeno del anticuerpo. En esta divulgación se pueden utilizar anticuerpos monoclonales de cualquier especie de mamífero. En la práctica, sin embargo, los anticuerpos serán normalmente de rata o de origen múrdo, debido a la disponibilidad de líneas celulares de rata o múrdas para utilizar en la elaboración de líneas celulares híbridas o hibridomas necesarias para producir anticuerpos monoclonales.

5 Según se usa en este documento, la expresión "anticuerpo policlonal" se refiere a una composición de anticuerpos que tiene una población heterogénea de anticuerpos. Los anticuerpos policlonales se derivan a menudo del suero reunido de animales inmunizados o de seres humanos seleccionados.

10 "Dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo o un fragmento funcional de éste", según se usa en este documento, significa (i) el dominio variable de la cadena pesada de un anticuerpo de cadena pesada, el cual está naturalmente desprovisto de cadenas ligeras (también indicado de aquí en adelante como  $V_{HH}$ ), que incluye, pero no exclusivamente, el dominio variable de la cadena pesada de anticuerpos de cadena pesada de camélidos o tiburones o (ii) el dominio variable de la cadena pesada de un anticuerpo convencional de cuatro cadenas (también indicado de aquí en adelante como  $V_H$ ), que incluye, pero no exclusivamente, un dominio variable (como se define más adelante en este documento) de la cadena pesada de un anticuerpo convencional de cuatro cadenas camelizado (también indicado de aquí en adelante como  $V_H$  camelizado). Como se describe más adelante, la secuencia de aminoácidos y la estructura de un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo se puede considerar, sin limitarse a ello sin embargo, que está compuesta por cuatro regiones marco o "FR", a las que se hace referencia en el área y aquí más adelante como "región marco 1" o "FR1"; como "región marco 2" o "Fr2"; como "región marco 3" o "FR3"; y "región marco 4" o "FR4", respectivamente, donde dichas regiones marco están interrumpidas por tres regiones determinantes de complementariedad o "CDR", a las que se hace referencia en el área como "región determinante de complementariedad 1" o "CDR1"; como "región determinante de complementariedad 2" o "CDR2"; y como "región determinante de complementariedad 3" o "CDR3", respectivamente.

Como también se describe aquí más adelante, el número total de residuos de aminoácidos en un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo (incluidos un  $V_{HH}$  o un  $V_H$ ) puede ser del orden de 110-130, preferentemente de 112 a 115, y muy preferentemente es de 113. No obstante, se debe destacar que las partes, los fragmentos o análogos de un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo no están particularmente limitados en cuanto a su longitud y/o tamaño, siempre que dichas partes, dichos fragmentos o análogos conserven (al menos parte de) la actividad funcional, como la actividad pesticida, biocida, biostática, fungicida o fungistática (según se definen en este documento) y/o conserven (al menos parte de) la especificidad de unión del dominio variable de una cadena pesada original de un anticuerpo del cual derivan tales partes, fragmentos o análogos. Las partes, los fragmentos o los análogos que conservan (al menos parte de) la actividad funcional, como la actividad pesticida, biocida, biostática, o la actividad fungicida o fungistática (según se definen en este documento) y/o que conservan (al menos parte de) la especificidad de unión del dominio variable de una cadena pesada original de un anticuerpo del cual derivan tales partes, fragmentos o análogos también se mencionan más adelante como "fragmentos funcionales" de un dominio variable de una cadena pesada.

Los residuos de aminoácidos de un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo (incluidos un  $V_{HH}$  o un  $V_H$ ) se numeran según la numeración general para los dominios variables de una cadena pesada indicados por Kabat et al. ("Sequence of proteins of immunological interest", US Public Health Services, NIH Bethesda, Md., N° de publicación 91), como se aplica a los dominios  $V_{HH}$  de camélidos en el artículo de Riechmann y Muyldermans, al que se hace referencia antes (véase por ejemplo FIG. 2 de dicha referencia). De acuerdo con esta numeración, FR1 de un dominio variable de una cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 1-30, CDR1 de un dominio variable de una cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 31-36, FR2 de un dominio variable de una cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 36-49, CDR2 de un dominio variable de una cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 50-65, FR3 de un dominio variable de una cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 66-94, CDR3 de un dominio variable de una cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 95-102, y FR4 de un dominio variable de una cadena pesada comprende los residuos de aminoácidos en las posiciones 103-113. [A este respecto, se debe tener en cuenta como es bien sabido en el área para los dominios  $V_{HH}$  que el número total de residuos de aminoácidos en cada una de las CDR puede variar y puede no corresponderse con el número total de residuos de aminoácidos indicados por la numeración de Kabat (es decir, una o más posiciones según la numeración de Kabat pueden estar ocupadas en la secuencia real, o la secuencia real puede contener más residuos de aminoácidos que la cantidad permitida por la numeración de Kabat). Esto significa que, en general, la numeración según Kabat puede o no corresponder a la numeración real de los residuos de aminoácidos en la secuencia real. Generalmente, sin embargo, se puede decir que, según la numeración de Kabat e independientemente de la cantidad de residuos de aminoácidos en las CDR, la posición 1 según la numeración de Kabat corresponde al inicio de FR1 y viceversa, la posición 36 según la numeración de Kabat corresponde al inicio de FR2 y viceversa, la posición 66 según la numeración de Kabat corresponde al inicio de FR3 y viceversa, y la posición 103 según la numeración de Kabat corresponde al inicio de FR4 y viceversa.].

Métodos alternativos para numerar los residuos de aminoácidos de los dominios variables de cadena pesada son el método descrito por Chothia et al. (Nature 342, 877-883 (1989), la denominada "definición de AbM" y la denominada "definición de contacto". Sin embargo, en la descripción, las reivindicaciones y las figuras de la presente, se seguirá la numeración de Kabat como la aplican a los dominios V<sub>HH</sub> Riechmann y Muyldermans, a menos que se indique lo contrario.

5

Para obtener una descripción general de los anticuerpos de cadena pesada y de los dominios variables de éstas, se hace referencia, entre otras, a las bibliografías siguientes que se mencionan como antecedentes generales del área:

10 WO 94/04678, WO 95/04079 y WO 96/34103 de la Vrije Universiteit Brussel; WO 94/25591, WO 99/37681, WO 00/40968, WO 00/43507, WO 00/65057, WO 01/40310, WO 01/44301, EP 1134231 y WO 02/48193 de Unilever; WO 97/49805, WO 01/21817, WO 03/035694, WO 03/054016 y WO 03/055527 del Vlaams Instituut voor Biotechnologie (VIB); WO 03/050531 de Algonomics N.V. y Ablynx NV; WO 01/90190 por el National Research Council of Canada; WO 03/025020 (=EP 1 433 793) por el Institute of Antibodies; así como WO 04/041867, WO 04/041862, WO 04/041865, WO 04/041863, WO 04/062551 por Ablynx NV y las solicitudes de patente posteriores publicadas por Ablynx NV; Hamers-Casterman et al., Nature 1993 Jun. 3; 363 (6428): 446-8; Davies y Riechmann, FEBS Lett. 21 de febrero de 1994; 339(3): 285-90; Muyldermans et al., Protein Eng. setiembre de 1994; 7(9): 1129-3; Davies y Riechmann, Biotechnology (NY) mayo de 1995; 13(5): 475-9; Gharoudi et al., 9th Forum of Applied Biotechnology, Med. Fac. Landbouw Univ. Gent. 1995; 60/4a parte I: 2097-2100; Davies and Riechmann, Protein Eng. junio de 1996; 9(6): 531-7; Desmyter et al., Nat Struct Biol. setiembre de 1996; 3(9): 803-11; el Sheriff et al., Nat Struct Biol. setiembre de 1996; 3(9): 733-6; Spinelli et al., Nat Struct Biol. setiembre de 1996; 3(9): 752-7; Arbabi Ghahroudi et al., FEBS Lett. 15 de setiembre de 1997; 414(3): 521-6; Vu et al., Mol. Immunol. noviembre-diciembre de 1997; 34(16-17): 1121-31; Atarhouch et al., Journal of Camel Practice and Research 1997; 4: 177-182; Nguyen et al., J. Mol. Biol. 23 de enero de 1998; 275(3): 413-8; Lauwereys et al., EMBO J. 1 de julio de 1998; 17(13): 3512-20; Frenken et al., Res Immunol. julio-agosto de 1998; 149(6):589-99; Transue et al., Proteins 1 de septiembre de 1998; 32(4): 515-22; Muyldermans y Lauwereys, J. Mol. Recognit. marzo-abril de 1999; 12 (2): 131-40; van der Linden et al., Biochim. Biophys. Acta 12 de abril de 1999; 1431(1): 37-46; Decanniere et al., Structure Fold. Des. 15 de abril de 1999; 7(4): 361-70; Ngyuen et al., Mol. Immunol. Junio de 1999; 36(8): 515-24; Woolven et al., Immunogenetics octubre de 1999; 50 (1-2): 98-101; Riechmann and Muyldermans, J. Immunol. Methods 10 de diciembre de 1999; 231 (1-2): 25-38; Spinelli et al., Biochemistry 15 de febrero de 2000; 39(6): 1217-22; Frenken et al., J. Biotechnol. 28 de febrero de 2000; 78(1): 11-21; Nguyen et al., EMBO J. 1 de marzo de 2000; 19(5): 921-30; van der Linden et al., J. Immunol. Methods 23 de junio de 2000; 240 (1-2): 185-95; Decanniere et al., J. Mol. Biol. 30 de junio de 2000; 300 (1): 83-91; van der Linden et al., J. Biotechnol. 14 de julio de 2000; 80(3): 261-70; Harmsen et al., Mol. Immunol. agosto de 2000; 37(10): 579-90; Perez et al., Biochemistry 9 de enero de 2001; 40(1): 74-83; Conrath et al., J. Biol. Chem. 9 de marzo de 2001; 276 (10): 7346-50; Muyldermans et al., Trends Biochem Sci. abril de 2001; 26(4):230-5; Muyldermans S., J. Biotechnol. junio de 2001; 74 (4): 277-302; Desmyter et al., J. Biol. Chem. 13 de julio de 2001; 276 (28): 26285-90; Spinelli et al., J. Mol. Biol. 3 de agosto de 2001; 311 (1): 123-9; Conrath et al., Antimicrob Agents Chemother. octubre de 2001; 45(10): 2807-12; Decanniere et al., J. Mol. Biol. 26 de octubre de 2001; 313(3): 473-8; Nguyen et al., Adv Immunol. 2001; 79: 261-96; Muruganandam et al., FASEB J. febrero de 2002; 16 (2): 240-2; Ewert et al., Biochemistry 19 de marzo de 2002; 41 (11): 3628-36; Dumoulin et al., Protein Sci. marzo de 2002; 11 (3): 500-15; Cortez-Retamozo et al., Int. J. Cancer. 20 de marzo de 2002; 98 (3): 456-62; Su et al., Mol. Biol. Evol. 19 de marzo de 2002 (3): 205-15; van der Vaart J M., Methods Mol. Biol. 2002; 178: 359-66; Vranken et al., Biochemistry 9 de julio de 2002; 41 (27): 8570-9; Nguyen et al., Immunogenetics abril de 2002; 54 (1): 39-47; Renisio et al., Proteins 1 de junio de 2002; 47 (4): 546-55; Desmyter et al., J. Biol. Chem. 28 de junio de 2002; 277 (26): 23645-50; Ledebouer et al., J. Dairy Sci. junio de 2002; 85 (6): 1376-82; De Genst et al., J. Biol. Chem. 16 de agosto de 2002; 277 (33): 29897-907; Ferrat et al., Biochem. J. 1 de setiembre de 2002; 366 (Pt 2): 415-22; Thomassen et al., Enzyme and Microbial Technol. 2002; 30: 273-8; Harmsen et al., Appl. Microbiol. Biotechnol. diciembre de 2002; 60 (4): 449-54; Jobling et al., Nat. Biotechnol. enero de 2003; 21 (1): 77-80; Conrath et al., Dev. Comp. Immunol. febrero de 2003; 27 (2): 87-103; Pleschberger et al., Bioconjug. Chem. marzo-abril de 2003; 14 (2): 440-8; Lah et al., J. Biol. Chem. 18 de abril de 2003; 278 (16): 14101-11; Nguyen et al., Immunology. mayo de 2003; 109 (1): 93-101; Joosten et al., Microb. Cell Fact. 30 de enero de 2003; 2 (1): 1; Li et al., Proteins 1 de julio de 2003; 52 (1): 47-50; Loris et al., Biol. Chem. 25 de julio de 2003; 278 (30): 28252-7; van Koningsbruggen et al., J. Immunol. Methods. agosto de 2003; 279 (1-2): 149-61; Dumoulin et al., Nature. 14 de agosto de 2003; 424 (6950): 783-8; Bond et al., J. Mol. Biol. 19 de septiembre de 2003; 332 (3): 643-55; Yau et al., J. Immunol. Methods. 1 de octubre de 2003; 281 (1-2): 161-75; Dekker et al., J. Virol. noviembre 2003; 77 (22): 12132-9; Meddeb-Mouelhi et al., Toxicon. diciembre 2003; 42 (7): 785-91; Verheesen et al., Biochim. Biophys. Acta 5 de diciembre de 2003; 1624 (1-3): 21-8; Zhang et al., J Mol Biol. 2 de enero de 2004; 335 (1): 49-56; Stijlemans et al., J Biol. Chem. 9 de enero de 2004; 279 (2): 1256-61; Cortez-Retamozo et al., Cancer Res. 15 de abril de 2004; 64 (8): 2853-7; Spinelli et al., FEBS Lett. 23 de abril de 2004; 564 (1-2): 35-40; Pleschberger et al., Bioconjug. Chem. mayo-junio de 2004; 15 (3): 664-71; Nicaise et al., Protein Sci. julio de 2004; 13 (7): 1882-91; Omidfar et al., Tumour Biol. julio-agosto de 2004; 25 (4): 179-87; Omidfar et al., Tumour Biol. setiembre-diciembre de 2004; 25(5-6): 296-305; Szynol et al., Antimicrob Agents Chemother. septiembre de 2004; 48(9):3390-5; Saerens et al., J. Biol. Chem. 10 de diciembre de 2004; 279 (50): 51965-72; De Genst et al., J. Biol. Chem. 17 de diciembre de 2004; 279 (51): 53593-601; Dolk et al., Appl. Environ. Microbiol. enero de 2005; 71(1): 442-50; Joosten et al., Appl Microbiol Biotechnol. enero de 2005; 66 (4): 384-92; Dumoulin et al., J. Mol. Biol. 25 de febrero de 2005; 346 (3): 773-88; Yau et al., J Immunol Methods. febrero de 2005; 297 (1-2):

213-24; De Genst et al., J. Biol. Chem. 8 de abril de 2005; 280 (14): 14114-21; Huang et al., Eur. J. Hum. Genet. 13 de abril de 2005; Dolk et al., Proteins. 15 de mayo de 2005; 59 (3): 555-64; Bond et al., J. Mol. Biol. 6 de mayo de 2005; 348(3):699-709; Zarebski et al., J. Mol. Biol. 21 de abril de 2005; [E-publicación antes de la impresión].

5 En general, se debe señalar que la expresión "dominio variable de una cadena pesada" según se usa en este documento en su sentido más amplio, no se limita a una fuente biológica específica ni a un método específico de preparación. Por ejemplo, como se explicará en más detalle a continuación, los dominios variables de cadena pesada de la divulgación se pueden obtener (1) por aislamiento del dominio  $V_{HH}$  de un anticuerpo de cadena pesada natural; (2) por aislamiento del dominio  $V_H$  de un anticuerpo de cuatro cadenas natural (3) mediante expresión de una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio  $V_{HH}$  natural; (4) mediante expresión de una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio  $V_H$  natural (5) por "camelización" (como se describe a continuación) de un dominio  $V_H$  natural de cualquier especie animal, en particular una especie de mamífero, como un ser humano, o mediante expresión de un ácido nucleico que codifica dicho dominio  $V_H$  camelizado; (6) por "camelización" de un "anticuerpo de dominio" o "Dab" según lo descrito por Ward et al (supra), o por expresión de un ácido nucleico que codifica dicho dominio  $V_H$  camelizado (7) utilizando técnicas sintéticas o semisintéticas para preparar proteínas, polipéptidos u otras secuencias de aminoácidos; (8) preparando un ácido nucleico que codifique un  $V_{HH}$  o un  $V_H$  mediante técnicas para la síntesis de ácido nucleico, seguido de la expresión del ácido nucleico así obtenido; y/o (9) por cualquier combinación de los anteriores. Los métodos y técnicas adecuados para realizar lo anterior serán evidentes para los expertos en la materia basándose en la presente memoria y, por ejemplo, incluyen los métodos y técnicas que se describen con más detalle a continuación.

Sin embargo, de acuerdo con una realización específica, los dominios variables de cadena pesada como los dados a conocer en este documento, no tienen una secuencia de aminoácidos que sea exactamente la misma (es decir, con un grado de identidad de secuencia del 100%) que la secuencia de aminoácidos de un dominio  $V_H$  de origen natural, por ejemplo la secuencia de aminoácidos de un dominio  $V_H$  de origen natural de un mamífero, y en particular de un ser humano.

Las expresiones "cantidad eficaz" y "dosis eficaz", según se usan en este documento, significan la cantidad necesaria para lograr el resultado o resultados deseados.

30 Según se usan en este documento, los términos "determinar", "medir", "evaluar", "monitorear" y "ensayar" son intercambiables e incluyen tanto determinaciones cuantitativas como cualitativas.

A menos que se defina lo contrario, todos los términos utilizados en la divulgación, incluidos los términos técnicos y científicos, tienen el significado que les da comúnmente un experto en el área a la que pertenece esta invención. Mediante una guía adicional, se incluyen definiciones de términos para apreciar mejor la enseñanza de la presente divulgación.

[Composiciones que contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo]

40 En un aspecto, los inventores de la presente identificaron composiciones agroquímicas que contienen al menos un dominio variable de un anticuerpo, que se puede unir específicamente a un esfingolípido de una plaga vegetal. Es importante destacar que, a través de esta interacción con una estructura molecular específica de la plaga, las composiciones dadas a conocer en este documento son capaces de controlar, modular, inhibir, prevenir o reducir una o más actividades biológicas del fitopatógeno, de modo que se controla, modula, inhibe, previene o reduce el crecimiento del fitopatógeno. En ciertas realizaciones, las composiciones agroquímicas como las descritas en este documento son capaces de matar una plaga vegetal a través de la interacción específica de al menos un dominio variable de un anticuerpo, que se puede unir específicamente a un esfingolípido de una plaga vegetal y que está contenido en las composiciones. Por consiguiente, las composiciones agroquímicas como las que se describen en este documento se pueden usar para modular, por ejemplo cambiar, disminuir o inhibir, la función biológica de una plaga vegetal mediante la unión a un sitio de unión presente en un esfingolípido diana de esa plaga vegetal, afectando así a las actividades biológicas naturales (como, entre otras, el crecimiento) de la plaga y/o una o más vías biológicas en las que esté involucrada la diana estructural de esa plaga.

Además, las composiciones que contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada como los descritos en este documento tienen varias ventajas adicionales respecto a los agentes de unión a inmunoglobulina y no inmunoglobulina tradicionales conocidos en la técnica. De hecho, en ciertas realizaciones, las secuencias de aminoácidos como las descritas aquí son dominios variables de cadena pesada aislados de inmunoglobulina, que son más potentes y más estables que los anticuerpos de cuatro cadenas convencionales, lo que conduce a (1) formas de dosificación menos concentradas, dosificaciones menos frecuentes y, por lo tanto, menos efectos secundarios; y (2) mayor estabilidad que resulta en una elección más amplia de las vías de administración. Debido a su pequeño tamaño, los dominios variables de una cadena pesada de inmunoglobulina tienen la capacidad de atravesar las membranas y penetrar en los compartimentos fisiológicos, tejidos y órganos que no son accesibles para otros polipéptidos y otras proteínas más grandes.

En una realización específica, pero no limitante, las composiciones que contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada como los descritos en este documento son capaces de unirse específicamente (como se define aquí) a una plaga vegetal diana o a un antígeno de una plaga vegetal; y más preferentemente capaces de unirse a una plaga o un fitopatógeno diana o al antígeno de una plaga vegetal o al antígeno de un fitopatógeno con una afinidad (medida adecuadamente y/o expresada como un valor de  $K_D$  (real o aparente), un valor de  $K_A$  (real o aparente), una constante cinética de asociación  $k_{on}$  y/o una constante cinética de disociación  $k_{off}$ , o alternativamente como un valor de  $CI_{50}$ , según se describe más detalladamente en este documento) que es como la definida aquí.

En realizaciones particulares, la descripción proporciona una composición agroquímica o una composición de pesticida biológico para combatir plagas vegetales, más particularmente un hongo de plantas, la cual contiene al menos un polipéptido o una secuencia de aminoácidos de 80 a 200 aminoácidos como sustancia activa.

En cierta realización adicional, la divulgación proporciona una composición agroquímica para combatir plagas vegetales, la cual contiene al menos dos polipéptidos o al menos dos secuencias de aminoácidos de 80 a 200 aminoácidos como la sustancia activa.

Aún en otras realizaciones, la divulgación proporciona una composición agroquímica para combatir plagas vegetales, las cuales contienen al menos tres polipéptidos o al menos tres secuencias de aminoácidos de 80 a 200 aminoácidos como la sustancia activa.

La composición agroquímica de acuerdo con la divulgación es una composición agroquímica, como las definidas aquí, para combatir plagas vegetales, según se definió antes, lo que significa que la composición agroquímica, más en particular la sustancia activa, según se definió antes, contenida en la composición agroquímica, es capaz de interferir con, preferentemente de reducir o detener, los efectos dañinos de una o más plagas vegetales en una o más plantas, preferentemente cultivos.

Por lo tanto, en una realización, la composición agroquímica contiene un polipéptido de 80 a 200 aminoácidos como sustancia activa.

En realizaciones más específicas, la composición agroquímica contiene un polipéptido de 80-100 aminoácidos, de 80-120 aminoácidos, de 80-140 aminoácidos, de 80-160 aminoácidos o de 80-180 aminoácidos.

Aún en otra realización, la composición agroquímica contiene un polipéptido de 100-200 aminoácidos, de 100-180 aminoácidos, de 100-160 aminoácidos, de 100-150 aminoácidos, de 100-140 aminoácidos o de 100-120 aminoácidos.

Todavía en otra realización, la composición agroquímica contiene un polipéptido de 110-200 aminoácidos, de 110-180 aminoácidos, de 110-160 aminoácidos, de 110-140 aminoácidos o de 110-130 aminoácidos.

En otra realización más, la composición agroquímica contiene un polipéptido de 120-200 aminoácidos, de 120-180 aminoácidos, de 120-160 aminoácidos o de 120-140 aminoácidos.

Aún en otra realización, la composición agroquímica contiene un polipéptido de 140-200 aminoácidos, de 140-180 aminoácidos o de 140-160 aminoácidos.

Todavía en otra realización, la composición agroquímica contiene un polipéptido de 160-200 aminoácidos o de 160-180 aminoácidos.

El al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo contenido en las composiciones descritas aquí, se puede derivar de un polipéptido natural, o alternativamente, se puede diseñar de forma totalmente artificial. Los ejemplos no limitantes de dichos polipéptidos naturales incluyen anticuerpos de cadena pesada (hcAb).

En particular, el al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo contenido en las composiciones descritas en este documento consiste en una única cadena polipeptídica y no se modifica después de la traducción. Más particularmente, el al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo contenido en las composiciones descritas aquí se deriva de un sistema inmunitario innato o adaptativo, preferentemente de una proteína de un sistema inmunitario innato o adaptativo. Aún más particularmente, el al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo contenido en las composiciones descritas aquí se deriva de una inmunoglobulina. Muy particularmente, el al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo contenido en las composiciones descritas aquí comprende 4 regiones marco y 3 regiones determinantes de complementariedad, o cualquier fragmento adecuado de las mismas (que luego contendrá generalmente al menos algunos de los residuos de aminoácidos que forman al menos una de las regiones determinantes de complementariedad). En particular, el al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo contenido en las composiciones descritas aquí es fácil de producir con alto rendimiento, preferentemente en un sistema de expresión recombinante microbiano, y conveniente de aislar y/o purificar posteriormente.

De acuerdo con realizaciones particulares, la divulgación proporciona una cantidad de tramos de residuos de aminoácidos (es decir péptidos pequeños) que son particularmente adecuados para unirse a un antígeno esfingolípido o a un esfingolípido diana, como, pero no exclusivamente, un antígeno esfingolípido fúngico, o un esfingolípido diana fúngico.

Estos tramos de residuos de aminoácidos pueden estar presentes y/o pueden estar incorporados en los dominios variables de cadena pesada como los dados a conocer aquí, en particular de manera que formen (parte de) el sitio de unión al antígeno de ese dominio variable de una cadena pesada. Como esos tramos de residuos de aminoácidos se generaron primero como secuencias de CDR de anticuerpos, por ejemplo como anticuerpos de cadena pesada, o de secuencias de  $V_H$  o  $V_{HH}$  que se generaron contra un esfingolípido diana (o pueden estar

basados en, y/o derivar de, dichas secuencias de CDR, como se describe más detalladamente aquí), se les denominará en general en este documento "*secuencias de CDR*" (es decir como secuencias de CDR1, secuencias de CDR2 y secuencias de CDR3, respectivamente). Se debe destacar sin embargo, que la divulgación en su sentido más amplio no está limitada a un papel específico o una función estructural específica que esos tramos de residuos de aminoácidos puedan tener en los dominios variables de cadena pesada como los descritos aquí, siempre que esos tramos de residuos de aminoácidos permitan que los dominios variables como los descritos en este documento se unan específicamente a un esfingolípido diana. Por lo tanto, generalmente, la divulgación en su sentido más amplio se refiere a composiciones agroquímicas que contienen un dominio variable de una cadena pesada capaz de unirse a un esfingolípido diana y que comprende una combinación de secuencias de CDR según se describe en este documento.

Por lo tanto, en realizaciones particulares, pero no limitantes, las secuencias de los dominios variables de cadena pesada como los dados a conocer, pueden ser dominios variables de cadena pesada que contienen al menos una secuencia de aminoácidos elegida del grupo que consiste en secuencias de CDR1, secuencias de CDR2 y secuencias de CDR3 que se describen en este documento. En particular, un dominio variable de una cadena pesada como los que se da a conocer aquí contiene al menos un sitio de unión al antígeno, donde dicho sitio de unión al antígeno comprende al menos una combinación de una secuencia de CDR1, una secuencia de CDR2 y una secuencia de CDR3 que se describen en este documento.

Cualquier dominio variable de una cadena pesada contenido en las composiciones agroquímicas dadas a conocer aquí y que tenga una de esas combinaciones de secuencias de CDR es preferentemente tal que se puede unir específicamente (según se definió aquí) a un esfingolípido diana o a un antígeno esfingolípido, y más en particular tal que se une específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno, en particular con una constante de disociación (Kd) de dicho dominio variable en solución, de  $10^{-8}$  moles/litro o menor.

La unión específica del dominio variable de una cadena pesada a un esfingolípido diana puede ser determinada de cualquier manera conocida per se, incluidas, por ejemplo biopanning (selección por afinidad), análisis Scatchard y/o ensayos de unión competitiva, como radioinmunoensayo (RIA), enzimoimmunoensayo (EIA) y ensayos de competición sándwich, y sus diferentes variantes conocidos en el área.

En una realización preferida, el polipéptido de 80 a 200 aminoácidos, se obtiene mediante selección por afinidad contra una molécula diana de una plaga particular y dicho polipéptido tiene una alta afinidad por dicha molécula diana de la plaga: habitualmente, la constante de disociación de la unión entre el polipéptido y su molécula diana de la plaga es inferior a  $10^{-5}$  M, más preferentemente, la constante de disociación es inferior a  $10^{-6}$  M, aún más preferentemente, la constante de disociación es inferior a  $10^{-7}$  M, muy preferentemente, la constante de disociación es inferior a  $10^{-8}$  M.

En realizaciones particulares, el al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo contenido en las composiciones descritas aquí tiene un valor de concentración inhibitoria mínima (MIC) para dicho hongo fitopatógeno de 1.0  $\mu\text{g}/\text{mL}$  o menos de dicho dominio variable en solución. También se dan a conocer en este documento polipéptidos de 80 a 200 aminoácidos, o de un subgrupo como los descritos antes, obtenidos mediante selección por afinidad a una plaga vegetal diana específica, que son capaces de inhibir el crecimiento y/o la actividad de una plaga de un cultivo en una concentración inhibitoria mínima de aproximadamente 0.00001 a 1  $\mu\text{M}$ . En realizaciones específicas las concentraciones inhibitorias mínimas son entre 0.0001 y 1  $\mu\text{M}$ , entre 0.001 y 1  $\mu\text{M}$ , entre 0.01 y 1  $\mu\text{M}$ , entre 0.1 y 1  $\mu\text{M}$ , entre 0.0001 y 0.1  $\mu\text{M}$ , entre 0.001 y 0.1  $\mu\text{M}$ , entre 0.01 y 0.1  $\mu\text{M}$ , entre 0.0001 y 0.01  $\mu\text{M}$ , entre 0.001 y 0.01  $\mu\text{M}$ .

La concentración inhibitoria mínima o el valor MIC es la menor concentración de un agente como un polipéptido que inhibe el crecimiento visible de la plaga de una planta o de un cultivo luego de la incubación. Por ejemplo, la concentración fungicida mínima (MFC) es considerada como la menor concentración del polipéptido que evita el crecimiento y reduce el inóculo fúngico en un 99.90% en 24 h. Las MFC (Concentraciones Fungicidas Mínimas) se pueden determinar en placas de agar, pero también convenientemente en líquidos (por ej. en placas de micropocillos) dependiendo del tipo de hongo y de las condiciones del ensayo.

En otras realizaciones particulares, las composiciones agroquímicas como las dadas a conocer en este documento, contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada que comprende al menos una combinación de secuencias de CDR elegidas del grupo compuesto por:

una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 85, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 169, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 253, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 86, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 170, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 254, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 87, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 171, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 255, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 88, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 172, y una





región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 319, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 153, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 237, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 320, y/o  
 5 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 154, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 238, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 321, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 155, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 239, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 322, y/o  
 10 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 156, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 240, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 323, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 157, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 241, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 324, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 158, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 242, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 325, y/o  
 15 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 159, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 243, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 326, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 160, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 244, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 327, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 161, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 245, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 328, y/o  
 20 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 162, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 246, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 329, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 163, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 247, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 330, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 164, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 248, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 331, y/o  
 25 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 165, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 249, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 332, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 166, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 250, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 333, y/o  
 30 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 167, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 251, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 334, y/o  
 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 168, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 252, y una  
 región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 335.

35 En realizaciones particulares, los dominios variables de cadena pesada en las composiciones descritas aquí, son  
 dominios variables de cadena pesada que constan esencialmente de cuatro regiones marco (FR1 a FR4  
 respectivamente) y tres regiones determinantes de complementariedad (CDR1 a CDR3 respectivamente); o de  
 cualquier fragmento adecuado de dicho dominio variable de una cadena pesada (el cual contendrá habitualmente al  
 40 menos algunos de los residuos de aminoácidos que forman al menos una de las CDR, como se describe más  
 detalladamente aquí).

Los dominios variables de cadena pesada como los dados a conocer pueden ser en particular una secuencia de un  
 dominio variable de una cadena pesada que se deriva de un anticuerpo de cuatro cadenas convencional (como, sin  
 limitación, una secuencia de  $V_H$  que se deriva de un anticuerpo humano) o ser una denominada secuencia de  $V_{HH}$   
 45 (según se definió aquí) que se deriva del denominado "anticuerpo de cadena pesada" (según se definió aquí).

En realizaciones particulares, las composiciones como las descritas, contienen al menos una secuencia de un  
 dominio variable de una cadena pesada derivada de un anticuerpo o un fragmento funcional de éste, por ejemplo,  
 pero no exclusivamente, un anticuerpo de cadena pesada camélido o un fragmento funcional de éste, cuya  
 secuencia de dominio variable, por lo tanto, puede ser por ejemplo un dominio variable de una cadena pesada de un  
 50 anticuerpo de cadena pesada de camélido ( $V_{HH}$ ).

Sin embargo, se debe tener en cuenta que la divulgación no está limitada en cuanto al origen de la secuencia del  
 dominio variable de la cadena pesada contenido en las composiciones descritas aquí (o de la secuencia de  
 nucleótidos de la divulgación utilizada para expresarlo), ni tampoco en cuanto a la manera en que se genera u  
 obtiene (o se ha generado u obtenido) el dominio variable de la cadena pesada o la secuencia de nucleótidos de  
 55 éste. Por lo tanto, los dominios variables de cadena pesada de las composiciones dadas a conocer en este  
 documento pueden ser dominios variables de cadena pesada de origen natural (de cualquier especie adecuada) o  
 dominios variables de cadena pesada sintéticos o semisintéticos. En una realización específica pero no limitante de  
 la divulgación, el dominio variable de la cadena pesada es una secuencia de inmunoglobulina de origen natural (de  
 cualquier especie adecuada) o una secuencia de inmunoglobulina sintética o semisintética, incluidas, pero no  
 60 exclusivamente, secuencias de inmunoglobulina "camelizadas", así como secuencias de inmunoglobulina que han  
 sido obtenidas por técnicas como maduración de la afinidad (por ejemplo, secuencias de inmunoglobulina sintéticas,  
 aleatorias o naturales), injerto de CDR, remodelación (vennering), combinación de fragmentos derivados de  
 diferentes secuencias de inmunoglobulina, ensamblado por PCR utilizando cebadores de superposición, y técnicas  
 similares para diseñar secuencias de inmunoglobulina bien conocidas por los expertos en la materia; o cualquier

combinación adecuada de cualquiera de las precedentes.

Las secuencias de los dominios variables de cadena pesada de las composiciones dadas a conocer, pueden ser en particular un anticuerpo de dominio (o un dominio variable de una cadena pesada que sea adecuado para usar como un anticuerpo de dominio), un anticuerpo de dominio único (o un dominio variable de una cadena pesada que sea adecuado para usar como un anticuerpo de dominio único), o un "dAb" (o un dominio variable de una cadena pesada que sea adecuado para usar como un dAb); otros dominios variables únicos, o cualquier fragmento adecuado de cualquiera de ellos. Para obtener una descripción general de anticuerpos de dominio (único), se hace referencia también al estado anterior de la técnica citado antes, así como a EP 0 368 684. Por el término "dAb", se hace referencia a Ward et al. (Nature 12 de octubre de 1989; 341 (6242): 544-6), a Holt et al., Trends Biotechnol., 2003, 21(11):484-490; así como a por ejemplo WO 06/030220, WO 06/003388 y otras solicitudes de patente publicadas de Domantis Ltd.

Por lo tanto, en realizaciones particulares, la presente divulgación proporciona dominios variables de cadena pesada con la estructura (general)

FR1 - CDR1 - FR2 - CDR2 - FR3 - CDR3 - FR4 en la que FR1 a FR4 se refieren a las regiones marco 1 a 4, respectivamente, y en la que CDR1 a CDR3 se refieren a las regiones determinantes de complementariedad 1 a 3, respectivamente, y son como se definen más adelante.

SEC. ID. N°: 1 a 84 (véase Tabla 1) indica las secuencias de aminoácidos de una cantidad de dominios variables de cadena pesada que han sido generados contra un esfingolípido diana, en particular contra glucosilceramida.

Tabla 1: Secuencias de VHH

Nombre	SEC. ID	Secuencia de aminoácidos de VHH
40F07	1	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCVASGTTFFSSYTMGWYRQAPGKQRELLASIEGGGNTDY ADSVKGRFTISRDNARNTVYQLQMNSLKTEDTAVYYCNAARTWSIFRNYWGQGTQVTVSS
41D01	2	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRFTFSRYGMGWFRLPGKQRELVTISITRGGTTTY ADSVKGRFTISRDNAKNTVYQLQMNSLKPEDTAVYYCNARSIWRDYWGQGTQVTVSS
41D06	3	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGGIFGINAMRWYRQAPGKQRELVASISSGGNTNY SESVKGRFTISRDDANYTVYQLQMNSLKPEDTAVYYCNFVRLWFPDYWGQGTQVTVSS
41G10	4	QVQLQESGGGLVQPGGSLTLSCAATKTGFSINAMGWYRQAPGKQREMVATITSSGTTNY ADSVKGRFAISRDNAKNTVSLQMNTLKPEDTALYYCNTEARRYFTRASQVYWGQGTQVT VSS
41H05	5	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGIFSNAMGWYRQDPGKQREMVATITSGANTNY FDSVKGRFTISRDNAKNTVYQLQMNSLKPEDTAVYYCNAVGRRWYGGYVELWGQGTQVTV SS
42C11	6	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSTYVMGWYRQAI GKQRELVAITITSSGKTNY AASVKGRFTVSRDITKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCGADRWVLRWSNYWGQGTQVTVS S
42C12	7	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSISSLGWYRQAPGKQREFVASATSSGDDTTYADS VKGRFTISRDNKNTVYQLQMNSLKPEDTAVYYCKGQRGVAWTRKEYWGQGTQVTVSS
50D03	8	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSTYAMGWYRQAI GKQRELVAITITSSGKTNY AASVKGRFTISRDITKNTMYLQMNSLKPEDTAVYYCGADRWVLRWSNYWGQGTQVTVS S

ES 2 703 192 T3

Nombre	SEC. ID	Secuencia de aminoácidos de VHH
50D07	9	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCTASGNIVNIRDMGWYRQVPGKQRELVAITITSDQSTNY ADSVKGRFTTTRDNAKKTVYQLQMDSLKPEDTAGYYCNARVRTVLRGWRDYGQGTQVTV SS
50E02	10	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSNAMGWYRQAPGKQRELVAAITSDGSTNY ADSVKGRFTISRDNANKNTAYLQMNLSLKPEDTAVYYCNLRRRTFLKSSDYWGQGTQVTVS S
51B08	11	QVQLQESGGGLVQAGDSLRLSCAASGRRFGSYAMGWFRQVPGKERELVAGISSGGSTKY ADSVRGRFTISRDNANKNTVSLQMKSLKPEDTAVYYCNAKYGRWYTYTGRPEYDSWGQGTQ VTVSS
51C06	12	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSSDTMGWYRRAPGKQRELVAAITTGNTNY ADSVKGRFTISRDNANKNTVYQLQMNLSLQPEDTAVYYCNCRRRWSRDFWGQGTQVTVSS
51C08	13	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGTIFSIKTMGWYRQAPGKQRELVAITISNGGSTNY ADSVKGRFTISRDNANKNTVYQLQMNLSLKPEDTAVYYCNARQQFYGAPYEYWGQGTQVTVS S
52A01	14	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCTASGAIITFSLGTMGWYRQAPGKQRELVASISTGSTNY ADSVKGRFTISRDIKKNILYQLQMNLSLKPEDTAVYSCNARLLWSNYWGQGTQVTVSS
52B01	15	QVQLQESGGGLVQAGESLRLSCAASGSTFVINVMGWYRQAPGEQRELVAITISRGGSTNY ADSVKGRFTISRDNANKVTVYQLQMDSLKPEDTAVYYCNAAGWVGTNYWGQGTQVTVSS
52G05	16	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTGSIAMGWYRQAPGKQRELVASITRRGSTNY ADSVKDRFTISRDNANNTVYQLQMNLSLKPEDTAVYYCNARRYTRNDYWGQGTQVTVSS
53A01	17	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCEVSGTTFISINTMGWHRQAPGKQRELVASISSGGWTNY ADSVKGRFTISRDNANKTVYQLQMNLSLKPEDTAVYYCRWGAIGNWYGGQGTQVTVSS
53F05	18	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASVRIFGLNAMGWYRQGPQRELVASITRGGSTNY AEPVKGRFTISRDNANNTVYQLQMNLSLKPEDTAVYYCNAERRWGLPNYWGQGTQVTVSS
54A02	19	QVQLQESGGGLVEAGGSLRLSCAASGRFTFSRYGMGWFRQAPGKEREFVAANRWSGGSTY YADSVRGRFTISRDNANKNTVYQLQMNLSLKPEDTAVYYCAAYAHITAWGMRNDYDYWGQ GTQVTVSS
54B01	20	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAATGRFTFSRYTMGWFRQAPGKERDFVAGITWTGGSTD YADSVKGRFTISRDNANKNTVYQLQMNLSLKPEDTAVYYCAAGNLLRLAGQLRRGYDSWGQ TQVTVSS

ES 2 703 192 T3

Nombre	SEC. ID	Secuencia de aminoácidos de VHH
54C01	21	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGRTGSRYAMGWFRQAPGKEREVVAIISWGGSTY YADSVKDRFTISRDNANKTVYLMHSLKPEDTAVYYCATRNRAGPHYSRGYTAGQEYDY WGQGTQVTVSS
54C04	22	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSIINAMGWYRQGPGERELVVDMTSGGSINY ADSVSGRFTISRDNANKTVYLMNSLKPEDTAVYYCHANLRRTAFWRNGNDYWGQGTQVT VSS
54C08	23	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSISSINAMGWYRQAPGKQRELVASITSGGSTNY ADSVKGRFTISRDNANKTVNLMNSLKPEDTAVYYCSAGPWYRRSWGRGTQVTVSS
54C10	24	QVQLQESGGGLVQPGESLRLSCAASASIFWVNDMGWYRQAPGKQRELVAQITRRGSTNY ADSVKGRFTISRDNAKDEVYLMNSLKPEDTAVYYCNADLAVRGRYWGQGTQVTVSS
54C11	25	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSFFPVNDMAWYRQALGNERELVANI TRGGSTNY ADSVKGRFTISRDNANKTVYLMNTLKPEDTAVYYCNVRI GFGWTAKAYWGQGTQVTVS S
54D03	26	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGGIFGINAMRWYRQAPGKQRELVASISSGGNTNY SESVKGRFTISRDDANYTVYLMNSLKPEDTAVYYCNFVRLWFPDYWGQGTQVTVSS
54D06	27	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTIRINAMGWYRQAPGKQRELVAITIRGGITNY ADSVKGRFTISRDNAKFTVYLMNSLKPEDTAVYYCNARSWVGPEYWGQGTQVTVSS
54D10	28	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGMTYSIHAMGWYRQAPGKERELVAITSTSGTTDY TDSVKGRFTISRDGANN TVYLMNSLKSEDTAVYYCHVKTRTWYNGKYDYWGQGTQVTV SS
54E01	29	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCTASGSIFSINPMGWYRQAPGKQRELVAAITSGGSTNY ADYVKGRFTISRDNANKVVYLMNSLKPEDTAVYYCNGRSTLWRRDYWGQGTQVTVSS
54E05	30	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINTMGWYRQAPGKQRELVAAITNRGSTNY ADFVKGRFTISRDNANKTVYLMNSLKPDDTAVYYCNAHRSWPRYDSWGQGTQVTVSS
54E10	31	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSINAMGWYRQAPGKQRELVAAITRGGSTNY ADSVKGRFTISRDNANN TVYLMNSLKPEDTAVYYCNAESRIFRFRYDYWGPGTQVTVSS
54F01	32	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCVTSGSIFGLNLMGWYRQAPGKQRELVAITIRGGSTNY ADSVKGRFTISRDNANKTVYLMNSLKPEDTAVYYCNVDRGWSSYWGQGTQVTVSS

ES 2 703 192 T3

Nombre	SEC. ID	Secuencia de aminoácidos de VHH
54F02	33	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCVTSIGSIRSIINTMGWYRQAPGNERELVATITSGGTTNY ADSVKNRFTISRDNAKNTVYIQMNSLKPEDTAVYYCNLHQRAWARSYVYWGQGTQVTVSS
54G01	34	QVQLQESGGGSVQPGGSLRLSCAASGSIFAVNAMGWYRQAPGHQRELVAIISSNSTSNY ADSVKGRFTISRDNAKNTVYIQMNSLKPEDTAVYFCYAKRSWFSQEYWGQGTQVTVSS
54G08	35	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSFNLMGWYRQAPGKQRELVAAITSSSNTNY ADSVKGRFTISRDNAKNTVYIQMNSLKPEDTAVYYCNAQYTIIPWGIKKDYWGQGTQVTVSS
54G09	36	QVQLQESGGGLMQPGGSLRLSCTASGNIVNIRDMDGWYRQVPGKQRELVAITISDQSTNY ADSVKGRFTITTRDNAKNTVYIQMDSLKPEDTAGYYCNARVRTVLRGWRDYWGQGTQVTVSS
55B02	37	QVQLQESGGGLVQPGESLRLSCVSGSIFNINSMNMYRQASGKQRELVADMRSDGSTNY ADSVKGRFTISRDNARKTVYIQMNSLKPEDTAVYYCHANSIFRSRDYWGQGTQVTVSS
55B05	38	QVQLQESGGGVVQAGDSLRLSCAASGRTFGGYTVAWFRQAPGKEREFVARISWSGIMAY YAESVKGRFTISRDNAKNTVYIQMNSLKPEDTAVYYCASRSQIRSPWSSLDDYDRWGQGTQVTVSS
55C05	39	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCVVSIGSISMKAMGWHYRQAPGKERELVAQITRGDSTNY ADSVKGRFTISRDNAKNTVYIQMNSLKPDDTGYYCNADRFVGRDYWGKGTQVTVSS
55D08	40	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRSILSISAMGWYRQGGPKQREPVATITSAGSSNY SDSVKGRFTISRDNAKNTAYLQMNSLKPEDTAVYYCKTVYSRPLLGPLEVWGQGTQVTVSS
55E02	41	QVQLQESGGGLVQTGGSLRLSCVASGSMFSSNAMAWYRQAPGKQRELVARILSGGSTNY ADSVKGRFTISRGNAKNTVYIQMNSLKPEDTAVYYCNAVRYLVNYWGQGTQVTVSS
55E07	42	QVQLQESGGGSVQVGDLSLTLSCVASGRSLDIYGMGWFRQAPGKEREFVARITSGGSTYY ADSVKGRFTLSRDNAKNTVYIQMNSLKPEDTAVYYCAAGVVVATSPKFYAYWGQGTQVTVSS
55E09	43	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASKRIFSTYTMGWFRQAPGKEREFVAIIWSGGRTTR YADSVKGRFTISRDNARNTVHLQMNLSLEPEDTAVYYCYTRRLGTGYWGQGTQVTVSS
55E10	44	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTFSIQTIGWYRQAPGKQDRVATISSGGSTNY ADSVKGRFTISRDNAKNTVYIQMNNLKPEDTAVYYCNLRYWFRDYWGQGTQVTVSS

ES 2 703 192 T3

Nombre	SEC. ID	Secuencia de aminoácidos de VHH
55F04	45	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSTFSINVRGWYRQAPGKQRELVATITSDGSTNY ADSVKGRFTISRDNALNTAYLQMNLSLKPEDTAVYYCNAVRLFRQYWGQGTQVTVSS
55F09	46	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFRLNAMGWYRQAPGKQRELVAAITPGGGNTT YADSVKGRFTISRDNALNTIYLMNSLKPEDTAVYYCNAGGSSRWYSSRYPPGGYWGQG TQVTVSS
55F10	47	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCATSSGGTFSRYAMGWFRQAPGKERELVATIRRSGSSTY YLDSTKGRFTISRDNAKNTVYLMNSLKLLEDTAVYYCAADSSARALVGGPGNRWDYWGQ GTQVTVSS
55G02	48	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIGSINVMGWYRQYPGKQRELVAFITSGGITNY TDSVKGRFAISRDNANQNTVYLMNSLTPEDTAVYYCHLKNKAKNVRPGYWGQGTQVTVSS
55G08	49	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCRASGGIFGINAMRWYRQAPGKQRELVASISSGGTDDY VESVKGRFTISRDNATNTVDLQMSALKPEDTAVYYCNFVRFWFPDYWGQGTQVTVSS
56A05	50	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFMSNTMGWYRQAPGKQRELVASISSGGSTNY ADSVKGRFTISRDNAAKTVYLMNSLKPEDTAVYYCNARRNVFISSWGQGTQVTVSS
56A06	51	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCVASGSI SVYGMGWYRQAPGKQRELVARITNIGTTNYA DSVKGRFTISRDNAKNTVYLMNSLQPEDTAVYYCNLRRLGRDYWGQGTQVTVSS
56A09	52	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASRTALRLNSMGWYRQAPGSQRELVATITRGGTTNY ADSVKGRFTISRREIGNNTVYLMNSLEPEDTAVYYCNANFGILVGREYWGKGTQVTVSS
56C09	53	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSIFSI L S M A W Y R Q T P G K Q R E L V A N I T S V G S T N Y ADSVKGRFTISRDIAKKTLVYLMNNLKPEDTAIYYCNTRMPFLGDSWGQGTQVTVSS
56C12	54	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAVSAF S F S N R A V S W Y R Q A P G K S R E W V A S I S G I R I T T Y TNSVKGRFTISRDNAAKTVYLMNDLRPEDTG V Y R C Y M N R Y S G Q G T Q V T V S S
56D06	55	QVQLQESGGGSVQPGGSLRLSCAASGTVFFSISAMGWYRQAPGKQRELVAGISRGGSTK YGDFVKGRFTISRDNQKKT I W L Q M N N L Q P E D T A I Y Y C R L T S I T G T Y L W G Q G T Q V T V S S
56D07	56	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGSIFSMKVMGWYRQGPGLRELVAVITSGGRITNY AESVKGRFTISRDNAKNTVSLQMNLSLQPEDTAVYYCYKTI R P Y W G Q G T Q V T V S S

ES 2 703 192 T3

Nombre	SEC. ID	Secuencia de aminoácidos de VHH
56D10	57	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFRITTMGWYRQAPGKQRELVASSSSGGTTNY ASSVKGRFTISRDNANKNTVYLQMNSLRPEDTAVYYCNARKFITTPWSTDYWGQGTQVTV SS
56E04	58	QVQLQESGGGLVQPGDSLRLSCTPSGSIFNHKATGWYRQAPGSQRELVAKITTTGGTTNY ADSVKGRFTISRDNANKNTVYLQMSLKPEDTAVYYCNAERYFATTLWGQGTQVTVSS
56E05	59	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFSNNAGGWYRQAPGQRELVARISSGGNTNY TDSVKGRFTISRDI TNKNTLSLQMNNLKPEDSAVYYCNAQR RVILGPRNYWGQGTQVTVS S
56E08	60	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGNIFRINDMGWYRQAPGNQRELVAITTSANITNY ADSVKGRFTISRDNANKNTVYLQMNSLNPEDTAVYYCTAQAKKWRIGPWSYWGQGTQVT VSS
56F07	61	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRIFSIINDMAWYRQAPGKQRELVAIITNDSTTY ADSVKGRFTISRDNANKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCNADINTAIWRRKYWGQGTQVTVS S
56F11	62	QVQLQESGGGLVQSGGSLRLSCVHSKTTFTRNAMGWYRQALGKERELVATITSGGTTNY ADSVKGRFTISMDSAKNTVYLQMNSLKPEDTAVYYCNVNTRRIFGGTVREYWGQGTQVT VSS
56G07	63	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAVSGSRIFIHDMGWHRQAPGEPRELVAITPFGRNY SEYVKGRFTVSRDIARNTMSLQMSNLKAEDTGMYYCNVRVNGVDYWGQGTQVTVSS
56G08	64	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAISGITFRFPFGISRMGWYRQAPGKERELVATLSRAG TSRYVDSVKGRFTISRDDAKNTLYLQMVSLNPEDTAVYYCYIAQLGTDYWGQGTQVTVS S
56G10	65	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCVASGITLRMYQVGWYRQAPGKQRELVAEISSRGTTMY ADSVKGRFTISR DGAKNIVYLQMN SLEPEDTAVYYCNARAFAFGRNSWGQGTQVTVSS
56H04	66	QVQLQESGGGSVQAGGSLRLSCAVSGGTFSNKAMGWYRQSSGKQALVARISTVGTAHY ADSVKGRFTVSKDNAGNTLYLQMN S LKPEDTAVYYCNAQAGRLYL RNYWGQGTQVTVSS
56H05	67	QVQLQESGGGLVQPGESLRLSCVAAASTSITTFNTMAWYRQAPGKQRELVAQINNRDNT EYADSVKGRFII SRGNAKNTSNLQMN DLKSEDTGIYYCNAKRWSWSTGFWGQGTQVTVS S
56H07	68	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCTASGLTFALGTMGWYRQAPGKQRELVASISTGSTNYA DSVKGRFTISRDI IKNILYLQMN S LKPEDTAVYSCNARLWWSNYWGQGTQVTVSS

ES 2 703 192 T3

Nombre	SEC. ID	Secuencia de aminoácidos de VHH
56H08	69	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCTASGRTSSVNPWGWRQAPGKQRELVAISSDGSTNY ADSVKGRFTVSRDNAKNTLYLQMNLSLKPEDTAVYYCNANRRWSWGSEYWGQGTQVTVSS
57A06	70	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGITFTNNAGGWYRQAPGQRELVARISSGGNTNY TDSVKGRFTISRDIKNTLSLQMNLSLKPEDSAVYYCNAQRVILGPRNYWGQGTQVTVSS
57B01	71	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCEAPVSTFNINAMAWYRQAPGKSRELVARISSGGSTNY ADSVKGRFTISRDNKNTVYLYQMNLSLKPEDTAVYICYVNRHWGWDYWGQGTQVTVSS
57B07	72	QVQLQESGGGLVQPGGTLRLSCVASGSFRSINAMGWYRQAPGKQRELVAIVDSGGYTNY ADSVKGRFTISRDNKNTVYLYQMSLTPEDTAVYYCYAGIYKWPWSVDARDYWGQGTQV TVSS
57B11	73	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSSISMNSMGWYRQAPGKERERVALIRSSGGTYT ADSVKGRFTISRDNKNTVYLYQMNLSLKPEDTAVYYCQARRTWLSSSESWGQGTQVTVSS
57C07	74	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSTFGINTMGWYRQAPEKQRELVASISRGGMTNY ADSVKGRFTISRDNKNTVYLYQMNLSLKPEDTAVYVCNAGIRSRWYGGPITTYWGQGTQV TVSS
57C09	75	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSTGSINAMGWYRQGPQKQDLVASISSGGATNY ADSVKGRFTISRDNKNTVYLYQMSLKPEDTAVYYCNAKSRWSWSIVHDYWGQGTQVTV VSS
57D02	76	QVQLQESGGGSVQTGGSLTLSCITSGSIFGRSDMGWYRQAPGKQRELVAITITRRSRTNY AEFVKGRFTISRDSAKNLVTLQMNLSLKPEDTNVYYCNARWGAGGIFSTWGQGTQVTVSS
57D09	77	QVQLQESGGGLVQPGESLRLSCAASGSMSIDAMGWYRQAPGDQRELVASITGGSTNYA DSVKGRFTISRDNKNTVWLYQMNLSLKPEDTAVYYCNAKVRRLRWFRRPPSDYWGQGTQVTV SS
57D10	78	QVQLQESGGGLVQPGGSLRLSCAASGRLLSISTMGWYRRTPEDQREMVASITKDGTTNY ADSVKGRFTISRDNKNTVYLYQMNLSLKPDDTAVYVCNARATTVVYRRDAEFWGQGTQV TVSS
57E07	79	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAASGSIFGINDMGWYRQAPGKQDLVADITRSGSTHY VDSVKGRFTISRDNKNTVYLYQMNLSLKPEDTAVYYCNADSGSHWNRDRDYWGQGTQVTV SS
57E11	80	QVQLQESGGGLVQPGGSLKLSCAASGFTFSINTMGWYRQAPGKQRELVARISRRLVTNY ADSVKGRFTISRDNKNTVYLYQMNLSLKPEDTAVYYCNAANWGLAGNEYWGQGTQVTVSS

Nombre	SEC. ID	Secuencia de aminoácidos de VHH
57G01	81	QVQLQESGGGLVQAGGSLRPSCTASGSTLLINSMGWYRQAPGKQRELVAIISNSGTTNY VDAVKGRFAISRDNANHTVYLQMNLSLEPEDTAVYYCNAQTFWRRNYWGQGTQVTVSS
57G07	82	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCAVSGSTSRINAMGWYRQAPGKKRESVATIRRGNTKY ADSVKGRFTISRDNANNTVYLQNLNLSKPEDTAVYYCNAHSWLDYDYWGRGTQVTVSS
57G08	83	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCASRRRINGITMGWYRQAPGKQRELVAIDIHNSTKYA DSVKGRFTISRDNNGKSMPLYLQMNLSKPEDTAVYYCNRIPTFGRYWGQGTQVTVSS
57H08	84	QVQLQESGGGLVQAGGSLRLSCVASGSTFYTFSTKNVWYRQAPGKQRELVAQQRYDGS TNYADSLQGRFTISRDNAKRTVYLQMNLSKPEDTAVYICNVNRGFI SYWGQGTQVTVSS

5 En particular, la divulgación en algunas realizaciones específicas proporciona composiciones agroquímicas que contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada que es dirigido contra un esfingolípido diana y que tiene al menos 80%, preferentemente al menos 85%, tanto como 90% o 95% o más de identidad de secuencia con al menos uno de los dominios variables de cadena pesada de SEC. ID N°: 1 a 84 (véase Tabla 1), y secuencias de ácido nucleico que codifican dichos dominios variables de cadena pesada.

10 Algunas secuencias de dominios variables de cadena pesada particularmente preferidos, como los dados a conocer en este documento, son aquellos que se unen a, y/o se dirigen contra, un esfingolípido de un fitopatógeno y que tienen al menos 90% de identidad aminoacídica con al menos uno de los dominios variables de cadena pesada de SEC. ID N°: 1 a 84 (véase Tabla 1), en los cuales a los efectos de determinar el grado de identidad aminoacídica, los residuos de aminoácidos que forman las secuencias de CDR no se toman en cuenta.

15 En estos dominios variables de cadena pesada, las secuencias de CDR (véase Tabla 2) son generalmente como se define aquí más adelante.

Tabla 2: secuencias de CDR

Nombre	Secuencia de CDR1	SEC. ID	Secuencia de CDR2	SEC. ID	Secuencia de CDR3	SEC. ID
40F07	SYTMG	85	SIEGGGNTDYADSVKG	169	ARTWSIFRNY	253
41D01	RYGMG	86	SITRGGTTYADSVKG	170	RSIWRDY	254
41D06	INAMR	87	SISSGGNTNYSESVKG	171	VRLWFPDY	255
41G10	INAMG	88	TITSGGTTNYADSVKG	172	EARRYFTRASQVY	256
41H05	INAMG	89	TITSGANTNYTDSVKG	173	VGRRWYGGYVEL	257
42C11	TYVMG	90	TITSSGKTNYAASVKG	174	DRWVLTRWSNY	258
42C12	ISSLG	91	SATSGGDTTYADSVKG	175	QRGVAWTRKEY	259
50D03	TYAMG	92	TITSSGKTNYAASVKG	176	DRWVLTRWSNY	260
50D07	IRDMG	93	TITSDQSTNYADSVKG	177	RVRTLRLGWRDY	261
50E02	INAMG	94	AITSDGSTNYADSVKG	178	RRRTFLKSSDY	262
51B08	SYAMG	95	GISSGGSTKYADSVRG	179	KYGRWYTYTGRPEYDS	263
51C06	SDTMG	96	AITGGGNTNYADSVKG	180	RRRWSRDF	264
51C08	IKTMG	97	TISNGGSTNYADSVKG	181	RQQFIGAPYDY	265
52A01	LGTMG	98	SISTGSTNYADSVKG	182	RLLWSNY	266
52B01	INVMG	99	TISRGGSTNYADSVKG	183	AGWVGVTNY	267

ES 2 703 192 T3

Nombre	Secuencia de CDR1	SEC. ID	Secuencia de CDR2	SEC. ID	Secuencia de CDR3	SEC. ID
52G05	ISAMG	100	SITRRGSTNYADSVKD	184	RRIYTRNDY	268
53A01	INTMG	101	SISSGGWTNYADSVKG	185	GAIGNW	269
53F05	LNAMG	102	SITTGGSTNYAEPVKG	186	ERRWGLPNY	270
54A02	RYGMG	103	ANRWSSGGSTYYADSVRG	187	YAHITAWGMRNDYEYD Y	271
54B01	RYTMG	104	GITWTGGSTDYADSVKG	188	GNLLRLAGQLRRGYDS	272
54C01	RYAMG	105	AISWSSGGSTYYADSVKD	189	RNRAGPHYSRGYTAGQ EYDY	273
54C04	INAMG	106	DMTSSGGSINYADSVSG	190	NLRTAFWRNGNDY	274
54C08	INAMG	107	SITSSGGSTNYADSVKG	191	GPWYRRS	275
54C10	VNDMG	108	QITRRGSTNYADSVKG	192	DLAVRGRY	276
54C11	VNDMA	109	NITRGGSTNYADSVKG	193	RIGFGWTAKAY	277
54D03	INAMR	110	SISSGGNTNYSESVKG	194	VRLWFPDY	278
54D06	INAMG	111	TITRGGITNYADSVKG	195	RSWVGPEY	279
54D10	IHAMG	112	ITSTSGTTDYTDSVKG	196	KTRTWYNGKYDY	280
54E01	INPMG	113	AITSSGGSTNYADYVKG	197	RSTLWRRDY	281
54E05	INTMG	114	AITNRGSTNYADYVKG	198	HRSWPRYDS	282
54E10	FNAMG	115	AITRGGSTNYADSVKG	199	ESRIFRRYDY	283
54F01	LNLMG	116	TITRGGSTNYADSVKG	200	DRGWSSY	284
54F02	INTMG	117	TITSSGGTTNYADSVKN	201	HQRAWARSYVY	285
54G01	VNAMG	118	IISSNSTSNYADSVKG	202	KRSWFSSQY	286
54G08	FNLMG	119	AITSSSNTNYADSVKG	203	QYTITPWGIKKDY	287
54G09	IRDMG	120	TITSDQSTNYADSVKG	204	RVRTLRLGWRDY	288
55B02	INSMN	121	DMRSDGSTNYADSVKG	205	NSIFRSRDY	289
55B05	GYTVA	122	RISWSSGIMAYYAESVKG	206	RSQIRSPWSSLDDYDR	290
55C05	MKAMG	123	QITRGDSTNYADSVKG	207	DRFFGRDY	291
55D08	ISAMG	124	TITSAGSSNYSDSVKG	208	VYSRPLLGPLEV	292
55E07	IYGMG	126	RITSSGGSTYYADSVKG	210	GWVATSPKIFYAY	294
55E09	TYTMG	127	AIIWSSGGRTRYADSVKG	211	RRLGTGY	295
55E10	IQTIG	128	TISSGGSTNYADSVKG	212	RYWFRDY	296
55F04	INVRG	129	TITSDGSTNYADSVKG	213	VRLFRQY	297
55F09	LNAMG	130	AITPGGGNTTYADSVKG	214	GGSSRWYSSRYPPGGY	298
55F10	RYAMG	131	TIRRSSTYYLDSTKG	215	DSSARALVGGPGNRWD Y	299
55G02	INVMG	132	FITSSGITNYTDSVKG	216	KNAKNVRPGY	300
55G08	INAMR	133	SISSGGTTDYVESVKG	217	VRFWFPDY	301

ES 2 703 192 T3

Nombre	Secuencia de CDR1	SEC. ID	Secuencia de CDR2	SEC. ID	Secuencia de CDR3	SEC. ID
56A05	SNTMG	134	SISSGGSTNYADSVKG	218	RRNVFISS	302
56A06	VYGMG	135	RITNIGTTNYADSVKG	219	RRLGRDY	303
56A09	LNSMG	136	TITRGGTTNYADSVKG	220	NFGILVGREY	304
56C09	ILSMA	137	NITSVGSTNYADSVKG	221	RMPFLGDS	305
56C12	NRAVS	138	SISGIRITTYTNSVKG	221	NRY	
56D06	ISAMG	139	GISRGGSTKYGDFVKG	223	TSITGTYL	306
56D07	MKVMG	140	VITSGGRTNYAESVKG	224	KTIRPY	307
56D10	ITTMG	141	SSSSGGTTNYASSVKG	225	RKFITTPWSTDY	308
56E04	HKATG	142	KITGGTTNYADSVKG	226	ERYFATTL	309
56E05	NNAGG	143	RISSGGNTNYTDSVKG	227	QRRVILGPRNY	310
56E08	INDMG	144	TITSANITNYADSVKG	228	QAKKWRIGPWSDY	311
56F07	INDMA	145	IITNDDSTTYADSVKG	229	DINTAIWRRKY	312
56F11	RNAMG	146	TITSGGTTNYADSVKG	230	NTRRIFGGTVREY	313
56G07	IHDMG	147	TITPFGRNYSEYVKG	231	RVNGVDY	314
56G08	ISRMG	148	TLSRAGTSRYVDSVKG	232	AQLGTDY	315
56G10	MYQVG	149	EISSRGTTMYADSVKG	233	RAFAFGNS	316
56H04	NKAMG	150	RISTVGTAHYADSVKG	234	QAGRLYLRNY	317
56H05	FNTMA	151	QINNRDNTYADSVKG	235	KRWSWSTGF	318
56H07	LGTMG	152	SISTGSTNYADSVKG	236	RLWWSNY	319
56H08	VNPMG	153	VISSDGSTNYADSVKG	237	NRRWSWGSEY	320
57A06	NNAGG	154	RISSGGNTNYTDSVKG	238	QRRVILGPRNY	321
57B01	INAMA	155	RISSGGSTNYADSVKG	239	NRHWGWDY	322
57B07	INAMG	156	TVDSGGYTYADSVKG	240	GIYKWPWSVDARDY	323
57B11	MNSMG	157	LIRSSGGTYADSVKG	241	RRTWLSSSES	324
57C07	INTMG	158	SISRGGMTNYADSVKG	242	GIRSRWYGGPITTY	325
57C09	INAMG	159	SISSGGATNYADSVKG	243	KKSRWSWSIVHDY	326
57D02	RSDMG	160	TITRRSRTNYAEFVKG	244	RWGAGGIFST	327
57D09	IDAMG	161	SITGGSTNYADSVKG	245	KVRLRWFPPSDY	328
57D10	ISTMG	162	SITKDGTNYADSVKG	246	RATTWVPYRRDAEF	329
57E07	INDMG	163	DITRSGSTHYVDSVKG	247	DSGSHWWNRRDY	330
57E11	INTMG	164	RISRLRVTNYADSVKG	248	ANWGLAGNEY	331
57G01	INSMG	165	TISNSGTTNYVDAVKG	249	QTFWRRNY	332
57G07	INAMG	166	TIRRGNTKYADSVKG	250	HSWLDYDY	333
57G08	GITMG	167	TIDIHNSTKYADSVKG	251	IPTFGRY	334
57H08	TKNVG	168	QQRYDGSTNYADSLQG	252	NRGFISY	335

Nuevamente, dichos dominios variables de cadena pesada se pueden derivar de cualquier manera adecuada y de cualquier fuente adecuada, y pueden ser por ejemplo secuencias de  $V_{HH}$  de origen natural (es decir de una especie

adecuada de camélido) o dominios variables de cadena pesada sintéticos o semisintéticos, que incluyen pero no exclusivamente secuencias de inmunoglobulina "camelizadas" (y en particular secuencias de dominio variable de cadena pesada camelizadas), así como aquellos que han sido obtenidos por técnicas como maduración de la afinidad (por ejemplo, partiendo de secuencias de inmunoglobulina sintéticas, aleatorias o de origen natural), injerto de CDR, remodelación (venearing), combinación de fragmentos derivados de diferentes secuencias de inmunoglobulina, ensamblado por PCR utilizando cebadores de superposición, y técnicas similares para diseñar secuencias de inmunoglobulina bien conocidas por los expertos en la materia; o cualquier combinación adecuada de cualquiera de las precedentes como se describirá más adelante.

Se entiende que las composiciones agroquímicas o las composiciones de control biológico como las dadas a conocer en este documento son estables, tanto durante el almacenamiento como durante la utilización, lo que significa que la integridad de la composición agroquímica se mantienen en las condiciones de almacenamiento y/o de utilización de la composición agroquímica, lo que puede incluir temperaturas elevadas, ciclos de congelación y descongelación, cambios en el pH o en la fuerza iónica, irradiación UV, presencia de productos químicos perjudiciales y similares. Más preferentemente, el polipéptido de 80 a 200 aminoácidos, y de los diversos subrangos descritos aquí, permanece estable en la composición agroquímica, lo que significa que la integridad y la actividad pesticida del polipéptido se mantienen en las condiciones de almacenamiento y/o utilización de la composición agroquímica, lo que puede incluir temperaturas elevadas, ciclos de congelación y descongelación, cambios en el pH o la fuerza iónica, irradiación UV, presencia de productos químicos perjudiciales y similares. Muy preferentemente, dicho polipéptido de 80 a 200 aminoácidos, y de los diversos subrangos descritos en este documento, permanece estable en la composición agroquímica cuando dicha composición se almacena a temperatura ambiente durante un período de dos años o cuando la composición agroquímica se almacena a 54 °C durante un período de dos semanas. Preferentemente, la composición agroquímica de la presente divulgación retiene al menos aproximadamente 70% de la actividad, más preferentemente al menos aproximadamente 70% a 80% de la actividad y muy preferentemente de aproximadamente 80% a 90% de la actividad o más. Opcionalmente, el polipéptido puede estar contenido en un portador, según se definió, para proteger al polipéptido de los efectos dañinos causados por otros componentes de la composición agroquímica o de efectos perjudiciales durante el almacenamiento o durante la aplicación. Los ejemplos de dichos portadores adecuados incluyen, pero no exclusivamente, alginatos, gomas, almidón, β-ciclodextrinas, celulosas, poliurea, poliuretano, poliéster, células microbianas o arcilla. La composición agroquímica se puede producir en cualquier tipo de formulación, las formulaciones preferidas son polvos, polvos humectables, gránulos humectables, gránulos dispersables en agua, emulsiones, concentrados emulsionables, polvos naturales, suspensiones, concentrados en suspensión, suspoemulsiones (mezclas de suspensiones y emulsiones), suspensiones de cápsulas, dispersiones acuosas, dispersiones oleosas, aerosoles, pastas, espumas, lechadas o concentrados fluidificables. El polipéptido de 80 a 200 aminoácidos, y de los diversos subrangos descritos aquí previamente, puede ser la única sustancia activa en la composición agroquímica o de control biológico de acuerdo con la divulgación; sin embargo, también es posible que la composición agroquímica contenga uno o más agroquímicos adicionales, según se definieron, aparte del polipéptido o la secuencia de aminoácidos (o el al menos uno, al menos dos o al menos tres polipéptidos o secuencias de aminoácidos como los dados a conocer en este documento). Dichas composiciones agroquímicas o de control biológico adicionales pueden tener un efecto diferente sobre las plagas vegetales que el polipéptido o la secuencia de aminoácidos, pueden tener un efecto sinérgico con el polipéptido o la secuencia de aminoácidos, o pueden incluso modificar la actividad del polipéptido o de la secuencia de aminoácidos sobre ciertas plantas. Los productos agroquímicos adicionales pueden ser herbicidas, insecticidas, fungicidas, nematocidas, acaricidas, bactericidas, viricidas, reguladores del crecimiento vegetal, protectores y similares e incluyen, pero no exclusivamente, glifosato, paraquat, metolacoloro, acetocoloro, mesotriona, 2,4-D, atrazina, glufosinato, sulfosato, fenoxaprop, pendimetalina, picloram, trifluralina, bromoxinilo, clodinafop, fluroxipir, nicosulfurón, bensulfurón, imazetapir, dicamba, imidacloprid, tiametoxam, fipronil, clorpirifos, deltametrina, lambda-cihalotrina, endosulfán, metamidofos, carbofurano, clotianidina, cipermetrina, abamectina, diflufenican, spinosad, indoxacarb, bifentrina, teflutrina, azoxistrobina, tiametoxam, tebuconazol, mancozeb, ciazofamida, fluazinam, piraclostrobina, epoxiconazol, clorotalonil, fungicidas de cobre, trifloxistrobina, protioconazol, difenoconazol, carbendazim, propiconazol, tiofanato, azufre, boscalid y otros productos agroquímicos conocidos o cualquier combinación adecuada de los mismos.

[Composiciones que contienen variantes de las secuencias de dominios variables de cadena pesada]

En un cierto aspecto, los dominios variables de cadena pesada contenidos en las composiciones agroquímicas descritas pueden estar opcionalmente unidos a uno o más grupos, moléculas o residuos adicionales a través de uno o más conectores. Estos uno o más, grupos, moléculas o residuos adicionales pueden servir para la unión a otras dianas de interés. Debe quedar claro que dichos grupos, residuos, moléculas y/o sitios de unión adicionales pueden, o no, proporcionar otra funcionalidad a los dominios variables de cadena pesada como los descritos aquí (y/o a la composición en la que están presentes) y pueden, o no, modificar las propiedades del dominio variable de una cadena pesada como los dados a conocer en este documento. Dichos grupos, residuos, moléculas o sitios de unión también pueden ser por ejemplo grupos químicos biológicamente activos. Estos grupos, moléculas o residuos están, en realizaciones particulares, unidos N- o C-terminalmente al dominio variable de una cadena pesada en las composiciones como las descritas aquí. En realizaciones particulares, los

dominios variables de cadena pesada en las composiciones agroquímicas descritas, también pueden haber sido modificados químicamente. Por ejemplo, una modificación de ese tipo puede implicar la introducción o unión de uno o más grupos funcionales, residuos o moléculas en o sobre el dominio variable de la cadena pesada. Estos grupos, residuos o moléculas pueden conferirle una o más propiedades o funcionalidades deseadas al dominio variable de la cadena pesada. Los ejemplos de dichos grupos funcionales serán evidentes para los expertos en la materia. Por ejemplo, la introducción o unión de dichos grupos funcionales a un dominio variable de una cadena pesada puede dar lugar a un aumento en la solubilidad y/o la estabilidad del dominio variable de la cadena pesada, a una reducción de la toxicidad del dominio variable de la cadena pesada, o a la eliminación o atenuación de cualquiera de los efectos secundarios indeseables del dominio variable de la cadena pesada, y/o a otras propiedades ventajosas. En realizaciones particulares, el uno o más grupos, residuos o moléculas se unen al dominio variable de la cadena pesada a través de uno o más conectores o espaciadores adecuados.

En otras realizaciones particulares, dos o más dominios variables de cadena pesada, específicos de la diana, de las composiciones agroquímicas descritas, se pueden unir entre sí o estar interconectados. En realizaciones particulares, los dos o más dominios variables de cadena pesada están unidos entre sí a través de uno o más conectores o espaciadores adecuados. Los espaciadores o conectores adecuados para utilizar en el acoplamiento de diferentes dominios variables de cadena pesada como los dados a conocer aquí serán evidentes para los expertos en la materia y pueden ser generalmente cualquier conector o espaciador utilizado en el área para unir péptidos y/o proteínas. Algunos conectores o espaciadores particularmente adecuados incluyen por ejemplo, pero no exclusivamente, conectores de polipéptidos como conectores de glicina, conectores de serina, conectores mixtos de glicina/serina, conectores ricos en glicina y en serina o conectores compuestos de fragmentos de polipéptidos en gran medida polares, o compuestos químicos reticulantes homo o heterobifuncionales como glutaraldehído u, opcionalmente maleimidas o ésteres NHS espaciados por PEG. Por ejemplo, un conector o espaciador polipeptídico puede ser una secuencia de aminoácidos adecuada que tenga una longitud de 1 a 50 aminoácidos, por ejemplo de 1 a 30, y en particular de 1 a 10 residuos de aminoácidos. Debe quedar claro que la longitud, el grado de flexibilidad y/u otras propiedades del conector o conectores pueden tener cierta influencia sobre las propiedades de los dominios variables de cadena pesada, incluidas entre otras la afinidad, la especificidad o la avidéz por la diana fúngica. Debe quedar claro que cuando se usan dos o más conectores, estos conectores pueden ser el mismo o diferentes. En el contexto de la presente divulgación, los expertos en la materia serán capaces de determinar los conectores óptimos para el propósito de acoplar los dominios variables de cadena pesada como los descritos, sin una indebida carga experimental.

[Composiciones que contienen fragmentos de dominios variables de cadena pesada]

La presente divulgación también abarca partes, fragmentos, análogos, mutantes, variantes, y/o derivados de los dominios variables de cadena pesada contenidos en las composiciones descritas aquí y/o polipéptidos que contienen, o esencialmente consisten en, una o más de tales partes, fragmentos, análogos, mutantes, variantes y/o derivados, en tanto tales partes, fragmentos, análogos, mutantes, variantes y/o derivados sean adecuados para los propósitos previstos en este documento. Tales partes, fragmentos, análogos, mutantes, variantes y/o derivados de acuerdo con la divulgación son aún capaces de unirse específicamente al esfingolípido diana.

[Dianas]

En realizaciones particulares, los dominios variables de cadena pesada contenidos en las composiciones descritas, se obtienen mediante selección por afinidad contra una plaga diana particular. Obtener polipéptidos adecuados mediante selección por afinidad contra una plaga diana particular se puede realizar por ejemplo mediante cribado de un conjunto, colección o biblioteca de células que expresan polipéptidos en su superficie (por ej. bacteriófagos) para la unión a una molécula diana de la plaga, donde dicha molécula es conocida en el área como diana para un pesticida; todo lo cual se puede realizar de manera conocida per se, que comprende esencialmente los pasos no limitantes siguientes: a) obtener una solución o suspensión aislada de una molécula diana de una plaga, donde dicha molécula es conocida por ser una diana de un pesticida; b) seleccionar fagos u otras células de una biblioteca de polipéptidos contra dicha molécula diana; c) aislar los fagos o las otras células que se unen a la molécula diana; d) determinar la secuencia de nucleótidos que codifica el inserto de polipéptido de fagos u otras células individuales que se unen; e) producir una cantidad del polipéptido de acuerdo con esta secuencia empleando expresión de proteínas recombinantes y f) determinar la afinidad de dicho polipéptido por dicha molécula diana de la plaga y opcionalmente g) probar la actividad pesticida de dicho polipéptido en un bioensayo para dicha plaga. Se pueden usar diversos métodos para determinar la afinidad entre el polipéptido y la molécula diana de la plaga, incluidos por ejemplo, enzoinmunoanálisis de adsorción (ELISA) o ensayos de resonancia de plasmones superficiales (SPR), que son práctica común en el área, por ejemplo como se describe en Sambrook et al. (2001), Molecular Cloning, A Laboratory Manual. 3ª edición. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY. Comúnmente se utiliza la constante de disociación para describir la afinidad entre un polipéptido y su molécula diana de la plaga. Habitualmente, la constante de disociación de la unión entre el polipéptido y su molécula diana de la plaga es inferior a  $10^{-5}$  M, más preferentemente, la constante de disociación es inferior a  $10^{-6}$  M, aún más preferentemente, la constante de disociación es inferior a  $10^{-7}$  M, muy preferentemente, la constante de disociación es inferior a  $10^{-8}$  M.

Moléculas diana de una plaga como las dadas a conocer en este documento son moléculas que aparecen en o sobre organismos que constituyen una plaga, las cuales, cuando se unen o inhiben, matan o detienen, inhiben o reducen el crecimiento o la actividad pesticida de dicho organismo que constituye la plaga. Dichas moléculas diana adecuadas están fácilmente disponibles para los expertos, en la bibliografía existente o en las bases de datos de patentes e incluyen, sin limitación, proteínas parasitarias secretadas, como 16D10, como moléculas diana de plaga adecuadas para nematodos formadores de nudos de raíz (Huang et al (2006) PNAS 103: 14302-14306), la bomba de protones V-ATPasa como molécula diana de plaga adecuada para las especies de insectos coleópteros, hemípteros y dípteros, y nematodos (Knight AJ y Behm CA (2011), Ex. Parasitol, 19 de setiembre), la tetraspanina PLS1 como molécula diana adecuada para la plaga fúngica. por *B. cinerea* y *M. grisea* (Gourgues et al (2002) Biochem. Biophys. Res. Commun. 297: 1197) o la ATPasa de bombeo de protones como diana antifúngica (Manavathu EK et al (1999) Antimicrob Agents and Chemotherapy, Dec p. 2950). Se entiende que las moléculas diana de plagas preferidas, son accesibles en el espacio extracelular (por contraposición a las dianas de plagas intracelulares).

Más particularmente, los esfingolípidos diana a los cuales se une el al menos un dominio variable de una cadena pesada de las composiciones agroquímicas descritas, constituye un grupo distintivo de lípidos de membrana, caracterizados por una estructura di-hidroxiamina (esfingosina) de cadena larga (monoinsaturada). Los esfingolípidos son componentes esenciales de la membrana plasmática de células donde se encuentran generalmente en la cara interna. Son constituyentes de la membrana de algunos grupos bacterianos, particularmente anaerobios. Estos grupos incluyen *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Sphingomonas*, *Sphingobacterium*, *Bdellovibrio*, *Cystobacter*, *Mycoplasma*, *Flectobacillus* y posiblemente *Acetobacter*. Los hongos en los que se han encontrado esfingolípidos comprenden *Saccharomyces*, *Candida*, *Histoplasma*, *Phytophthora*, *Cryptococcus*, *Aspergillus*, *Neurospora*, *Schizosaccharomyces*, *Fusicoccum*, *Shizophyllum*, *Amanita*, *Hansenula*, *Lactarius*, *Lentinus*, *Penicillium*, *Clitocybe*, *Paracoccidioides*, *Agaricus*, *Sporothrix* y oomicetos fitopatógenos.

El bloque de construcción básico de los esfingolípidos fúngicos es esfinganina, que se puede convertir en ceramida y finalmente en monohexósidos de ceramida (CMH; cerebrósidos), o en fitoceramida y finalmente en dihexósidos de ceramida (CDH) o en glicoinositol fosforilceramidas (GIPC). Los ejemplos no limitantes de esfingolípidos contra los cuales se dirige el al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo de las composiciones descritas, incluyen por ejemplo 9-metil 4,8-esfingadienina, glicosilceramidas, glucosilceramida, monoglucosilceramidas, oligoglucosilceramidas, gangliósidos, sulfátidos, ceramidas, esfingosina-1-fosfato, ceramida-1-fosfato, galactosilceramida, inositol-fosforilceramida (IPC), manosil-inositol-fosforilceramida (MIPC), galactosil-inositol-fosforilceramida, manosil-(inositol-fosforil)<sub>2</sub>-ceramida (M(IP)<sub>2</sub>C), dimanosil-inositol-fosforilceramida (M2IPC), galactosil-dimanosil-inositol-fosforilceramida (GalM2IPC), manosil-di-inositol-difosforilceramida, di-inositol-difosforilceramida, trigalactosil-glicosilceramida. Los ejemplos no limitantes de esfingolípidos contra los cuales se dirige al menos un dominio de anticuerpo variable de cadena pesada de las composiciones descritas en este documento incluyen, por ejemplo, glicosilceramidas, glucosilceramida, esfingomielina, monoglicosilceramidas, oligoglicosilceramidas, gangliósidos, sulfátidos, ceramidas, esfingosina-1-fosfato y ceramida-1-fosfato.

En ciertas realizaciones específicas, la diana a la que se unen los dominios variables de las composiciones agroquímicas de la presente divulgación no es la quitina.

En una realización preferida, la plaga o plagas vegetales que se combaten mediante la composición agroquímica o la composición de control biológico descritas en este documento es un hongo, tal como un hongo fitopatógeno, como se definió anteriormente. Los hongos pueden ser altamente perjudiciales para las plantas y pueden causar pérdidas sustanciales en los cultivos. Los hongos fitopatógenos incluyen hongos necrotróficos y hongos biotróficos, e incluyen ascomicetos, basidiomicetos y oomicetos.

Los ejemplos de hongos fitopatógenos son conocidos en el área e incluyen, pero no exclusivamente, los elegidos del grupo que consiste en los géneros: *Alternaria*; *Ascochyta*; *Botrytis*; *Cercospora*; *Colletotrichum*; *Diplodia*; *Erysiphe*; *Fusarium*; *Leptosphaeria*; *Gaeumanomyces*; *Helminthosporium*; *Macrophomina*; *Nectria*; *Peronospora*; *Phoma*; *Phymatotrichum*; *Phytophthora*; *Plasmopara*; *Podosphaera*; *Puccinia*; *Puthium*; *Pyrenophora*; *Pyricularia*; *Pythium*; *Rhizoctonia*; *Scerotium*; *Sclerotinia*; *Septoria*; *Thielaviopsis*; *Ucinula*; *Venturia*; y *Verticillium*. Los ejemplos específicos de infecciones por hongos en plantas que se pueden combatir con las composiciones agroquímicas de la divulgación incluyen, *Erysiphe graminis* en cereales, *Erysiphe cichoracearum* y *Sphaerotheca fuliginea* en cucurbitáceas, *Podosphaera leucotricha* en manzanas, *Ucinula necator* en vides, *Puccinia sp.* en cereales, *Rhizoctonia sp.* en algodón, patatas, arroz y céspedes, *Ustilago sp.* en cereales y caña de azúcar, *Venturia inaequalis* (sarna) en manzanas, *Helminthosporium sp.* en cereales, *Septoria nodorum* en trigo, *Septoria tritici* en trigo, *Rhynchosporium secalis* en cebada, *Botrytis cinerea* (moho gris) en fresas, tomates y uvas, *Cercospora arachidicola* en cacahuete, *Peronospora tabacina* en tabaco, u otra *Peronospora* en diversos cultivos, *Pseudocercospora herpotrichoides* en trigo y cebada, *Pyrenophora teres* en cebada, *Pyricularia oryzae* en arroz, *Phytophthora infestans* en patatas y tomates, *Fusarium sp.* (como *Fusarium oxysporum*) y *Verticillium sp.* en varias plantas, *Plasmopara viticola* en uvas, *Alternaria sp.* en frutas y hortalizas, *Pseudoperonospora cubensis* en pepinos, *Mycosphaerella fijiensis* en banana, *Ascochyta sp.* en garbanzos, *Leptosphaeria sp.* en canola, y *Colletotrichum sp.*

en diversos cultivos. Las composiciones de acuerdo con la divulgación son activas contra especies normalmente sensibles y resistentes y contra todas o algunas etapas del ciclo de vida del hongo fitopatógeno.

En realizaciones particulares, las composiciones agroquímicas dadas a conocer en este documento se dirigen contra un hongo fitopatógeno del género elegido del grupo compuesto por *Alternaria*, *Ascochyta*, *Botrytis*, *Cercospora*, *Colletotrichum*, *Diplodia*, *Erysiphe*, *Fusarium*, *Leptosphaeria*, *Gaeumanomyces*, *Helminthosporium*, *Macrophomina*, *Nectria*, *Penicillium*, *Peronospora*, *Phoma*, *Phymatotrichum*, *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Podosphaera*, *Puccinia*, *Pyrenophora*, *Pyricularia*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Scerotium*, *Sclerotinia*, *Septoria*, *Thielaviopsis*, *Uncinula*, *Venturia*, *Verticillium*, *Magnaporthe*, *Blumeria*, *Mycosphaerella*, *Ustilago*, *Melampsora*, *Phakospora*, *Monilinia*, *Mucor*, *Rhizopus* y *Aspergillus*.

En ciertas realizaciones particulares, las composiciones como las descritas en este documento contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada, que se une específicamente a un esfingolípido de un hongo de la especie fúngica *Botrytis*, *Fusarium* o *Penicillium*. En otras realizaciones particulares, el esfingolípido fúngico es una ceramida, por ejemplo, en particular, glucosilceramida.

De hecho, en realizaciones particulares, la presente divulgación proporciona composiciones agroquímicas que contienen dominios variables de cadena pesada que se dirigen específicamente contra un componente molecular estructural del hongo, es decir, un esfingolípido fúngico. Los inventores sorprendentemente han tenido éxito en la identificación de dichos dominios variables de cadena pesada, aunque en general se describe en el área que es (técnicamente) difícil generar proteínas o secuencias de aminoácidos que tengan una interacción única y específica con estructuras moleculares no proteínicas.

Basándose en la presente enseñanza, los expertos en la materia pueden prever ejemplos adicionales no limitantes de moléculas diana de plagas fúngicas adecuadas, que comprenden, por ejemplo, quitina sintasa,  $\beta$ -1,3-glucano sintasa, succinato deshidrogenasa, glicosilceramidas fúngicas, o la tetraspanina PLS1.

En el presente documento también se describen bacterias fitopatógenas que incluyen, pero no exclusivamente, *Acidovorax avenae* subsp. *avenae* (causante del rayado marrón bacteriano del arroz), *Acidovorax avenae* subsp. *cattleyae* (causante de la mancha marrón bacteriana en *cattleya*), *Acidovorax konjaci* *Konnyaku* (causante del tizón bacteriano de la hoja), *Agrobacterium rhizogenes* (causante de las raíces en cabellera del melón), *Agrobacterium tumefaciens* (causante de la corona de agallas), *Burkholderia andropogonis* (causante de la mancha bacteriana del clavel), *Burkholderia caryobi* (causante del marchitamiento bacteriano del clavel), *Burkholderia cepacia* (causante de la mancha marrón bacteriana de la orquídea barco), *Burkholderia gladioli* pv. *gladioli* (causante de la podredumbre del cuello del gladiolo), *Burkholderia glumae* (causante del añublo bacteriano del arroz), *Burkholderia plantarii* (causante del tizón de las plántulas de arroz), *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (causante del cancro bacteriano del tomate), *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus* (causante de la podredumbre anular de la patata), *Clostridium* spp. (causante de la podredumbre fangosa de la patata), *Curtobacterium flaccumfaciens* (causante del cancro bacteriano de la cebolla), *Erwinia amylovora* (causante del tizón de la pera), *Erwinia ananas* (causante del pardeamiento bacteriano de la palea del arroz), *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* (causante de la pata negra de la patata), *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora* (causante de la podredumbre blanda bacteriana de las hortalizas), *Erwinia chrysanthemi* (causante del tizón bacteriano de las plántulas de taro), *Erwinia chrysanthemi* pv. *zeae* (causante de la podredumbre bacteriana del tallo del arroz), *Erwinia herbicola* pv. *milletiae* (causante de la agalla bacteriana de la glicinia), *Pseudomonas cichorii* (causante de la mancha bacteriana del crisantemo), *Pseudomonas corrugate* Pith (causante de la necrosis del tomate), *Pseudomonas fuscovaginae* (causante de la podredumbre parda de la vaina del arroz), *Pseudomonas marginalis* pv. *marginalis* (causante de la podredumbre blanda de la col) *Pseudomonas rubrisubalbicans* (causante de la estría moteada de la caña de azúcar), *Pseudomonas syringae* pv. *aptata* (causante del tizón bacteriano de la remolacha azucarera), *Pseudomonas syringae* pv. *atropurpurea* (causante del tizón de halo del ryegrass), *Pseudomonas syringae* pv. *castaneae* (causante del cancro bacteriano del castaño), *Pseudomonas syringae* pv. *glycinea* (causante del tizón bacteriano de la soja), *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (causante de la mancha bacteriana del pepino), *Pseudomonas syringae* pv. *maculicola* (causante de la mancha negra bacteriana de la col), *Pseudomonas syringae* pv. *mori* (causante del tizón bacteriano de la mora), *Pseudomonas syringae* pv. *morsprunorum* (causante del cancro bacteriano de las ciruelas), *Pseudomonas syringae* pv. *oryzae* (causante del tizón de halo del arroz), *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola* (causante del tizón del frijol), *Pseudomonas syringae* pv. *pisi* (causante del tizón bacteriano del frijol), *Pseudomonas syringae* pv. *sesame* (causante de la mancha bacteriana del sésamo), *Pseudomonas syringae* pv. *striaefaciens* (causante del tizón rayado bacteriano de la avena), *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* (causante de las manchas marrones bacterianas), *Pseudomonas syringae* pv. *tabaci* (causante del fuego salvaje del tabaco), *Pseudomonas syringae* pv. *theae* (causante de la plaga bacteriana del té), *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* (causante de la mancha bacteriana foliar del tomate), *Pseudomonas viridiflava* (causante de la mancha parda bacteriana del frijol), *Ralstonia solanacearum* (causante del marchitamiento bacteriano), *Rathayibacter rathayi* (causante del tizón bacteriano del pasto ovillo), *Streptomyces scabies* (causante de la sarna común de la patata), *Streptomyces ipomoea* (causante de la podredumbre del suelo de la batata), *Xanthomonas albilineans* (causante del rayado blanco de la caña de azúcar), *Xanthomonas campestris* pv. *cerealis* (causante del rayado bacteriano del centeno),

Xanthomonas campestris pv. campestris (causante de la podredumbre negra), Xanthomonas campestris pv. citri (causante del cancro de los cítricos), Xanthomonas campestris pv. cucurbitae (causante de la mancha marrón bacteriana del pepino), Xanthomonas campestris pv. glycines (causante de la pústula bacteriana de la soja), Xanthomonas campestris pv. incanae (causante de la podredumbre negra en stocks), Xanthomonas campestris pv. 5 (causante de la mancha angular de la hoja del algodón), Xanthomonas campestris pv. (causante del cancro bacteriano del mango), Mangiferaeindicae Xanthomonas campestris pv. mellea (causante de la mancha foliar bacteriana del tabaco de Wisconsin), Xanthomonas campestris pv. (causante de la mancha bacteriana del gran nigromaculans bardana), Xanthomonas campestris pv. phaseoli (causante de la pústula bacteriana del frijol), Xanthomonas campestris pv. pisi (causante de la podredumbre del tallo del guisante), Xanthomonas campestris pv. 10 pruni (causante de la mancha bacteriana del melocotón), Xanthomonas campestris pv. raphani (causante de la mancha bacteriana del rábano japonés), Xanthomonas campestris pv. ricini (causante de la mancha bacteriana de la planta del aceite de ricino), Xanthomonas campestris pv. Theicola (Causante de cancro del té), Xanthomonas campestris pv. translucens (causante del tizón bacteriano del pasto ovillo), Xanthomonas campestris pv. vesicatoria (causante de la mancha bacteriana del tomate), Xanthomonas oryzae pv. Oryzae (causante del tizón bacteriano de 15 las hojas de arroz).

También se describen en el presente documento, plagas vegetales como insectos, arácnidos, helmintos, virus, nematodos y moluscos que se encuentran en la agricultura, en la horticultura, en los bosques, en los jardines y en las instalaciones de ocio. Las composiciones de acuerdo con la divulgación son activas contra especies 20 normalmente sensibles y resistentes y contra todas o algunas etapas de desarrollo. Estas plagas vegetales incluyen: plagas del filo: de los artrópodos, en particular de la clase de los arácnidos, por ejemplo, Acarus spp., Aceria sheldoni, Aculops spp., Aculus spp., Amblyomma spp., Amphitetranychus viennensis, Argas spp., Boophilus spp., Brevipalpus spp., Bryobia praetiosa, Centruroides spp., Chorioptes spp., Dermanyssus gallinae, Dermatophagoides pteronyssius, Dermatophagoides farinae, Dermacentor spp., Eotetranychus spp., Eptimerus pyri, Eutetranychus spp., Eriophyes spp., Halotydeus destructor, Hemitarsonemus spp., Hyalomma spp., Ixodes spp., Latrodectus spp., Loxosceles spp., Metatetranychus spp., Nuphessa spp., Oligonychus spp., Ornithodoros spp., Ornithonyssus spp., Panonychus spp., Phyllocoptura oleivora, Polyphagotarsonemus latus, Psoroptes spp., Rhipicephalus spp., Rhizoglyphus spp., Sarcoptes spp., Scorpio maurus, Stenotarsonemus spp., Tarsonemus spp., Tetranychus spp., Vaejovis spp., Vasates lycopersici. Otros ejemplos son del orden de los anopluros (Phthiraptera), por ejemplo, 25 Damalinia spp., Haematopinus spp., Linognathus spp., Pediculus spp., Ptilus pubis, Trichodectes spp. Aún otros ejemplos son del orden de los quilópodos, por ejemplo, Geophilus spp., Scutigera spp.

Todavía otros ejemplos son del orden de los coleópteros, por ejemplo, Acalymma vittatum, Acanthoscelides obtectus, Adoretus spp., Agelastica alni, Agriotes spp., Alphitobius diaperinus, Amphimallon solstitialis, Anobium punctatum, Anoplophora spp., Anthonomus spp., Anthrenus spp., Apion spp., Apogonia spp., Atomaria spp., 35 Attagenus spp., Bruchidius obtectus, Bruchus spp., Cassida spp., Cerotoma trifurcata, Ceutorrhynchus spp., Chaetocnema spp., Cleonus mendicus, Conoderus spp., Cosmopolites spp., Costelytra zealandica, Ctenicera spp., Curculio spp., Cryptorhynchus lapathi, Cyllindrocopturus spp., Dermestes spp., Diabrotica spp., Dichocrocis spp., Diloboderus spp., Epilachna spp., Eptitrix spp., Faustinus spp., Gibbium psyllodes, Hellula undalis, Heteronychus arator, Heteronyx spp., Hylamorpha elegans, Hylotrupes bajulus, Hypera postica, Hypothenemus spp., Lachnosterna consanguinea, Lema spp., Leptinotarsa decemlineata, Leucoptera spp., Lissorhoptrus oryzophilus, Lixus spp., Luperodes spp., Lyctus spp., Megascelis spp., Melanotus spp., Meligethes aeneus, Melolontha spp., Migdolus spp., Monochamus spp., Naupactus xanthographus, Niptus hololeucus, Oryctes rhinoceros, Oryzaephilus surinamensis, Oryzaphagus oryzae, Otiorrhynchus spp., Oxycetonia jucunda, Phaedon cochleariae, Phyllophaga spp., Phyllostreta spp., Popillia japonica, Premnotrypes spp., Prosthephanus truncatus, Psylliodes spp., Ptinus spp., Rhizobius ventralis, 45 Rhizopertha dominica, Sitophilus spp., Sphenophorus spp., Stegobium paniceum, Sternechus spp., Symphyletes spp., Tanymericus spp., Tenebrio molitor, Tribolium spp., Trogoderma spp., Tychius spp., Xylotrechus spp., Zabrus spp.

Aún otros ejemplos son del orden de los colémbolos, por ejemplo, Onychiurus armatus. Aún otros ejemplos son del orden de los diplópodos, por ejemplo, Blaniulus guttulatus.

Aún otros ejemplos son del orden de los dípteros, por ejemplo, Aedes spp., Agromyza spp., Anastrepha spp., 50 Anopheles spp., Asphondylia spp., Bactrocera spp., Bibio hortulanus, Calliphora erythrocephala, Ceratitis capitata, Chironomus spp., Chrysomyia spp., Chrysops spp., Cochliomyia spp., Contarinia spp., Cordylobia anthropophaga, Culex spp., Culicoides spp., Culiseta spp., Cuterebra spp., Dacus oleae, Dasyneura spp., Delia spp., Dermatobia hominis, Drosophila spp., Echinocnemeus spp., Fannia spp., Gasterophilus spp., Glossina spp., Haematopota spp., Hydrellia spp., Hylemyia spp., Hyppobosca spp., Hypoderma spp., Liriomyza spp., Lucilia spp., Lutzomia spp., Mansonia spp., Musca spp., Nezara spp., Oestrus spp., Oscinella frit, Pegomyia spp., Phlebotomus spp., Phorbia spp., Phormia spp., Prodiplosis spp., Psila rosae, Rhagoletis spp., Sarcophaga spp., Simulium spp., Stomoxys spp., 55 Tabanus spp., Tannia spp., Tetanops spp., Tipula spp.

Aún otros ejemplos son del orden de los heterópteros, por ejemplo, Anasa tristis, Antestiopsis spp., Boisea spp., 60 Blissus spp., Calocoris spp., Campylomma livida, Cavalerius spp., Cimex spp., Collaria spp., Creontiades dilutus, Dasyneus piperis, Dichelops furcatus, Diconocoris hewetti, Dysdercus spp., Euschistus spp., Eurygaster spp., Heliopeltis spp., Horcias nobilellus, Leptocoris spp., Leptoglossus phyllopus, Lygus spp., Macropes excavatus, Miridae, Monalonia atratum, Nezara spp., Oebalus spp., Pentomidae, Piesma quadrata, Piezodorus spp., Psallus spp., Pseudacysta persea, Rhodnius spp., Sahlbergella singularis, Scaptocoris castanea, Scotinophora spp.,

Stephanitis nashi, Tibraca spp., Triatoma spp.

Aún otros ejemplos son del orden de los homópteros, por ejemplo, Acyrthosipon spp., Acrogonia spp., Aeneolamia spp., Agonoscena spp., Aleurodes spp., Aleurolobus barodensis, Aleurothrixus spp., Amrasca spp., Anuraphis cardui, Aonidiella spp., Aphanostigma pin, Aphis spp., Arboridia apicalis, Aspidiella spp., Aspidiotus spp., Atanus spp., Aulacorthum solani, Bemisia spp., Brachycaudus helichrysi, Brachycolus spp., Brevicoryne brassicae, Calligypona marginata, Carneocephala fulgida, Ceratovacuna lanigera, Cercopidae, Ceroplastes spp., Chaetosiphon fragaefolii, Chionaspis tegalensis, Chlorita onukii, Chromaphis juglandicola, Chrysomphalus ficus, Cicadulina mbila, Coccomytilus halli, Coccus spp., Cryptomyzus ribis, Dalbulus spp., Dialeurodes spp., Diaphorina spp., Diaspis spp., Drosicha spp., Dysaphis spp., Dysmicoccus spp., Empoasca spp., Eriosoma spp., Erythroneura spp., Euscelis bilobatus, Ferrisia spp., Geococcus coffeae, Hieroglyphus spp., Homalodisca coagulata, Hyalopterus arundinis, Icerya spp., Idiocerus spp., Idioscopus spp., Laodelphax striatellus, Lecanium spp., Lepidosaphes spp., Lipaphis erysimi, Macrosiphum spp., Mahanarva spp., Melanaphis sacchari, Metcalfiella spp., Metopolophium dirhodum, Monellia costalis, Monelliopsis pecanis, Myzus spp., Nasonovia ribisnigri, Nephrotettix spp., Nilaparvata lugens, Oncometopia spp., Orthezia praelonga, Parabemisia myricae, Paratrioza spp., Parlatoria spp., Pemphigus spp., Peregrinus maidis, Phenacoccus spp., Phloeomyzus passerinii, Phorodon humuli, Phylloxera spp., Pinnaspis aspidistrae, Planococcus spp., Protopulvinaria pyriformis, Pseudaulacaspis pentagona, Pseudococcus spp., Psylla spp., Pteromalus spp., Pyrilla spp., Quadraspidotus spp., Quesada gigas, Rastrococcus spp., Rhopalosiphum spp., Saissetia spp., Scaphoides titanus, Schizaphis graminum, Selenaspis articulatus, Sogata spp., Sogatella furcifera, Sogatodes spp., Stictocephala festina, Tenalaphara malayensis, Tinocallis caryaefoliae, Tomaspis spp., Toxoptera spp., Trialeurodes spp., Trioza spp., Typhlocyba spp., Unaspis spp., Viteus vitifolii, Zyginia spp.

Aún otros ejemplos son del orden de los himenópteros, por ejemplo, Acromyrmex spp., Athalia spp., Atta spp., Diprion spp., Hoplocampa spp., Lasius spp., Monomorium pharaonis, Solenopsis invicta, Tapinoma spp., Vespa spp. Aún otros ejemplos son del orden de los isópodos, por ejemplo, Armadillidium vulgare, Oniscus asellus, Porcellio scaber.

Aún otros ejemplos son del orden de los isópteros, por ejemplo, Coptotermes spp., Cornitermes cumulans, Cryptotermes spp., Incisitermes spp., Microtermes obesi, Odontotermes spp., Reticulitermes spp.

Aún otros ejemplos son del orden de los lepidópteros, por ejemplo, Acronicta major, Adoxophyes spp., Aedia leucomelas, Agrotis spp., Alabama spp., Amyeloides transitella, Anarsia spp., Anticarsia spp., Argyroproce spp., Barathra brassicae, Borbo cinnara, Bucculatrix thurberiella, Bupalus piniarius, Busseola spp., Cacoecia spp., Caloptilia theivora, Capua reticulana, Carpocapsa pomonella, Carposina niponensis, Chematobia brumata, Chilo spp., Choristoneura spp., Clysia ambiguella, Cnaphalocerus spp., Cnephasia spp., Conopomorpha spp., Conotrachelus spp., Copitarsia spp., Cydia spp., Dalaca noctuides, Diaphania spp., Diatraea saccharalis, Earias spp., Ecdytolopha aurantium, Elasmopalpus lignosellus, Eldana saccharina, Ephestia spp., Epinotia spp., Epiphyas postvittana, Etiella spp., Eulia spp., Eupoecilia ambiguella, Euproctis spp., Euxoa spp., Feltia spp., Galleria mellonella, Gracillaria spp., Grapholitha spp., Hedylepta spp., Helicoverpa spp., Heliothis spp., Hofmannophila pseudospretella, Homoeosoma spp., Homona spp., Hyponomeuta padella, Kakivoria flavofasciata, Laphygma spp., Laspeyresia molesta, Leucinodes orbonalis, Leucoptera spp., Lithocolletis spp., Lithophane antennata, Lobesia spp., Loxagrotis albicosta, Lymantria spp., Lyonetia spp., Malacosoma neustria, Maruca testulalis, Mamestra brassicae, Mocis spp., Mythimna separata, Nymphula spp., Oiketicus spp., Oria spp., Orthaga spp., Ostrinia spp., Oulema oryzae, Panolis flammea, Parnara spp., Pectinophora spp., Perileucoptera spp., Phthorimaea spp., Phyllocnistis citrella, Phyllonorycter spp., Pieris spp., Platynota stultana, Plodia interpunctella, Plusia spp., Plutella xylostella, Prays spp., Prodenia spp., Protoperce spp., Pseudaletia spp., Pseudoplusia includens, Pyrausta nubilalis, Rachiplusia nu, Schoenobius spp., Scirpophaga spp., Scotia segetum, Sesamia spp., Sparganothis spp., Spodoptera spp., Stathmopoda spp., Stomopteryx subsecivella, Synanthedon spp., Tecia solanivora, Thermesia gemmatialis, Tinea pellionella, Tineola bisselliella, Tortrix spp., Trichophaga tapetzella, Trichoplusia spp., Tuta absoluta, Virachola spp.

Aún otros ejemplos son del orden de los ortópteros, por ejemplo, Acheta domesticus, Blatta orientalis, Blattella germanica, Dichroplus spp., Gryllotalpa spp., Leucophaea maderae, Locusta spp., Melanoplus spp., Periplaneta spp., Pulex irritans, Schistocerca gregaria, Supella longipalpa.

Aún otros ejemplos son del orden de los sifonápteros, por ejemplo, Ceratophyllus spp., Ctenocephalides spp., Tunga penetrans, Xenopsylla cheopis.

Aún otros ejemplos son del orden de los sínfilos, por ejemplo, Scutigera spp.

Aún otros ejemplos son del orden de los tisanópteros, por ejemplo, Anaphothrips obscurus, Baliothrips biformis, Drepanothrips reuteri, Enneothrips flavens, Frankliniella spp., Heliothrips spp., Hercinothrips femoralis, Rhipiphorotheus cruentatus, Scirtothrips spp., Taeniothrips cardamoni, Thrips spp.

Aún otros ejemplos son del orden de los zigenomas (= tisanuros), por ejemplo, Lepisma saccharina, Thermobia domestica, por ejemplo Lepisma saccharina, Thermobia domestica.

En otra realización, plagas del filo de los moluscos, en particular de la clase de los bivalvos, por ejemplo Dreissena spp. también son plagas vegetales importantes.

En otra realización, plagas de la clase de los gasterópodos son plagas vegetales importantes, por ejemplo, Anion spp., Biomphalaria spp., Bulinus spp., Deroceras spp., Galba spp., Lymnaea spp., Oncomelania spp., Pomacea spp., Succinea spp.

En otra realización más, las plagas vegetales son del filo de los nematodos que son plagas vegetales importantes, es decir, nematodos fitoparásitos, lo que significa nematodos parásitos de plantas que causan daños a las mismas.

Los nematodos de plantas abarcan nematodos parásitos de plantas y nematodos que viven en el suelo. Los nematodos parásitos de plantas incluyen, pero no exclusivamente, ectoparásitos como *Xiphinema* spp., *Longidorus* spp. y *Trichodorus* spp.; semiparásitos como *Tylenchulus* spp.; endoparásitos migratorios tales como *Pratylenchus* spp., *Radopholus* spp. y *Scutellonema* spp.; parásitos sedentarios como *Heterodera* spp., *Globodera* spp. y *Meloidogyne* spp., y endoparásitos de tallo y hoja como *Ditylenchus* spp., *Aphelenchoides* spp. y *Hirshmaniella* spp. Además, los nematodos del suelo parásitos dañinos de la raíz son nematodos formadores de quistes de los géneros *Heterodera* o *Globodera*, y/o nematodos formadores de nudos de las raíces del género *Meloidogyne*. Las especies dañinas de estos géneros son, por ejemplo, *Meloidogyne incognata*, *Heterodera glycines* (nematodo del quiste de la soja), *Globodera pallida* y *Globodera rostochiensis* (nematodo del quiste de la patata). Aún otros géneros importantes de importancia como plagas vegetales incluyen *Rotylenchulus* spp., *Paratrichodorus* spp., *Pratylenchus penetrans*, *Radopholus similis*, *Ditylenchus dipsaci*, *Tylenchulus semipenetrans*, *Xiphinema* spp., *Bursaphelenchus* spp., y similares, en particular *Aphelenchoides* spp., *Bursaphelenchus* spp., *Ditylenchus* spp., *Globodera* spp., *Heterodera* spp., *Longidorus* spp., *Meloidogyne* spp., *Pratylenchus* spp., *Radopholus similis*, *Trichodorus* spp., *Tylenchulus semipenetrans*, *Xiphinema* spp.

También se describen en el presente documento como plagas vegetales los virus de plantas elegidos entre un alfamovirus, un allexivirus, un alfacryptovirus, un anulavirus, un apscaviroide, un aureusvirus, un avenavirus, un avsunviroide, un badnavirus, un begomovirus, un benyvirus, un betacryptovirus, un betaflexiviridae, un bromovirus, un bymovirus, un capillovirus, un carlavirus, un carmovirus, un caulimovirus, un cavemovirus, un cheravirus, un closterovirus, un cocadviroide, un coleviroide, un comovirus, un crinivirus, un cucumovirus, un curtovirus, un cytorhabdovirus, un dianthovirus, un enamovirus, un umbavirus y virus satelital tipo B, un fabavirus, un fijivirus, un furovirus, un hordeivirus, un hostuviroide, un idaeovirus, un ilarvirus, un ipomovirus, un luteovirus, un machlovirus, un macluavirus, un marafivirus, un mastrevirus, un nanovirus, un necrovirus, un nepovirus, un nucleorhabdovirus, un oleavirus, un ophiovirus, un oryzavirus, un panicovirus, un pecluvirus, un petuvirus, un phytoreovirus, un polerovirus, un pomovirus, un pospiviroide, un potexvirus, un potyvirus, un reovirus, un rhabdovirus, un rymovirus, un sadwavirus, un virus similar al SbCMV, un sequivirus, un sobemovirus, un tenuivirus, un virus satelital similar al TNsatV, un tobamovirus, un topocuvirus, un tospovirus, un trichovirus, un tritimovirus, un tungrovirus, un tymovirus, un umbravirus, un varicosavirus, un vitivirus o un waikavirus.

[Formas del antígeno diana]

Se apreciará, basándose en la divulgación, que para aplicaciones agroquímicas y de control biológico, los dominios variables de cadena pesada de las composiciones descritas en este documento se dirigirán en principio o se unirán específicamente a varias formas diferentes de los esfingolípidos diana. También se espera que los dominios variables de cadena pesada de las composiciones como las descritas en este documento se unan a varios análogos de origen natural o sintéticos, variantes, mutantes, alelos, partes y fragmentos de sus esfingolípidos diana. Más particularmente, se espera que los dominios variables de cadena pesada de las composiciones como las descritas en este documento se unan al menos a esos análogos, variantes, mutantes, alelos, partes y fragmentos del esfingolípido diana que (aún) contienen el sitio de unión, parte o dominio del esfingolípido diana natural, al que se unen esos dominios variables de cadena pesada.

[Formulaciones]

Se prevé que el contenido de polipéptidos en la composición agroquímica o de control biológico dada a conocer en este documento, puede variar dentro de un amplio intervalo y generalmente corresponde al fabricante modificar el intervalo de concentración de un polipéptido particular de acuerdo con una plaga específica del cultivo que hay que atenuar.

En realizaciones particulares, la presente divulgación proporciona composiciones agroquímicas que contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada, donde dicho dominio variable de una cadena pesada está presente en una cantidad eficaz para proteger o tratar una planta o una parte de dicha planta de una infección u otra interacción biológica con dicho fitopatógeno.

En una realización específica, la concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica, puede ser entre 0.0001% y 50% en peso.

En realizaciones particulares, la presente divulgación proporciona composiciones agroquímicas que contienen al menos un dominio variable de una cadena pesada, donde la concentración del al menos un dominio variable en la composición agroquímica varía entre 0.001% y 50% en peso.

Aún en otra realización específica, la concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica, puede ser entre 0.001% y 50% en peso. Aún en otra realización específica, la concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica, puede ser entre 0.01% y 50% en peso. Aún en otra realización específica, la concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica puede ser entre 0.1% y 50% en peso.

Aún en otra realización específica, la concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica, puede ser entre 1% y 50% en peso. Aún en otra realización específica, la concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica,

5 puede ser entre 10% y 50% en peso. Aún en otra realización específica, la concentración del dominio variable de la  
 10 cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica, puede ser entre 0.0001% y 40% en peso. En  
 otra realización específica, la concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la  
 15 composición agroquímica, puede ser entre 0.001% y 40% en peso. Aún en otra realización específica, la  
 concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica  
 puede ser entre 0.01% y 40% en peso. Aún en otra realización específica, la concentración del dominio variable de  
 20 la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica, puede ser entre 0.1% y 40% en peso. Aún  
 en otra realización específica, la concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en  
 la composición agroquímica puede ser entre 1% y 40% en peso. Aún en otra realización específica, la concentración  
 del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica, puede ser entre  
 25 0.0001% y 30% en peso. Aún en otra realización específica, la concentración del dominio variable de la cadena  
 pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica, puede ser entre 0.001% y 30% en peso. Aún en otra  
 realización específica, la concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la  
 composición agroquímica, puede ser entre 0.01% y 30% en peso. Aún en otra realización específica, la  
 30 concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica,  
 puede ser entre 0.1% y 30% en peso. Aún en otra realización específica, la concentración del dominio variable de la  
 cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica, puede ser entre 1% y 30% en peso. En otra  
 realización específica, la concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la  
 composición agroquímica, puede ser entre 0.0001% y 10% en peso. Aún en otra realización específica, la  
 concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica,  
 puede ser entre 0.001% y 10% en peso. Aún en otra realización específica, la concentración del dominio variable de  
 la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica, puede ser entre 0.01% y 10% en peso.  
 Aún en otra realización específica, la concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido  
 contenido en la composición agroquímica, puede ser entre 0.1% y 10% en peso. Aún en otra realización específica,  
 la concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica,  
 puede ser entre 1% y 10% en peso. Aún en otra realización específica, la concentración del dominio variable de la  
 cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica, puede ser entre 0.0001% y 1% en peso. Aún  
 en otra realización específica, la concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en  
 la composición agroquímica, puede ser entre 0.001% y 1% en peso. Aún en otra realización específica, la  
 concentración del dominio variable de la cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica,  
 puede ser entre 0.01% y 1% en peso. Aún en otra realización específica, la concentración del dominio variable de la  
 cadena pesada o polipéptido contenido en la composición agroquímica, puede ser entre 0.1% y 1% en peso.

35 En realizaciones particulares, las composiciones agroquímicas dadas a conocer en este documento contienen al  
 menos un dominio variable de una cadena pesada, que se formula en una solución acuosa.

En otras realizaciones particulares, las composiciones agroquímicas dadas a conocer contienen al menos un  
 dominio variable de una cadena pesada y contienen además un portador agroquímicamente adecuado y/o uno o  
 más ayudantes adecuados.

40 Las composiciones de acuerdo con la divulgación pueden contener, además de los dominios variables antiplaga  
 descritos antes, portadores sólidos o líquidos que sean aceptables en el tratamiento de plagas de plantas y/o partes  
 de plantas, y/o surfactantes que también sean aceptables en el tratamiento de plagas de plantas y/o partes de  
 plantas. En particular, se pueden usar portadores inertes y habituales y surfactantes habituales. Estas  
 composiciones abarcan no sólo composiciones listas para ser aplicadas a las plantas y/o partes de plantas a ser  
 tratadas por inmersión o empleando un dispositivo adecuado, sino también composiciones concentradas  
 45 comerciales que deben ser diluidas antes de la aplicación a las plantas y/o partes de las plantas.

Estas composiciones agroquímicas de acuerdo con la divulgación también pueden contener cualquier tipo de otros  
 ingredientes como, por ejemplo, coloides protectores, adhesivos, espesantes, agentes tixotrópicos, agentes de  
 penetración, estabilizantes, secuestrantes, texturizantes, aromatizantes, potenciadores del sabor, azúcares,  
 edulcorantes, colorantes y similares. Más generalmente, las sustancias activas, es decir, el al menos un dominio  
 50 variable de una cadena pesada, se pueden combinar con cualquier aditivo sólido o líquido correspondiente a las  
 técnicas de formulación habituales.

El término "portador", en la presente divulgación, indica una sustancia orgánica o inorgánica, natural o sintética, con  
 la que se combina la sustancia activa antiplaga para facilitar su aplicación a las plantas y/o a una o más partes de  
 55 las plantas. Por lo tanto, este portador es generalmente inerte y debe ser aceptable en el sector agroalimentario. El  
 portador puede ser sólido (arcillas, silicatos naturales o sintéticos, sílice, resinas, ceras, fertilizantes sólidos y  
 similares) o líquido (agua, alcoholes, en particular butanol y similares).

El surfactante puede ser un emulsionante, un dispersante o un humectante de tipo iónico o no iónico, o una mezcla  
 de dichos surfactantes. Se pueden mencionar, por ejemplo, sales de ácidos poliacrílicos, sales de ácidos  
 60 lignosulfónicos, sales de ácidos fenolsulfónicos o naftalenosulfónicos, policondensados de óxido de etileno con  
 alcoholes grasos o con ácidos grasos o con aminas grasas, fenoles sustituidos (en particular alquilfenoles o  
 arilfenoles), sales de ésteres de ácidos sulfosuccínicos, derivados de taurina (en particular alquiltauratos), ésteres  
 fosfóricos de fenoles o alcoholes polioxietilados, ésteres de ácidos grasos y polioles, y derivados que contienen el  
 grupo funcional sulfato, sulfonato y fosfato de los compuestos anteriores. La presencia de al menos un surfactante

es generalmente esencial cuando el portador inerte no es soluble en agua y cuando el agente vector para la aplicación es agua.

Las composiciones agroquímicas como las descritas en este documento se encuentran en formas bastante diversas, sólidas o líquidas.

5 Como formas de composición sólidas, se pueden mencionar polvos de espolvorear (contenido de sustancia activa que puede ser de hasta el 100%) y gránulos, en particular los obtenidos por extrusión, por compactación, por impregnación de un portador granulado, por granulación utilizando un polvo como material de partida (el contenido de sustancia activa en estos gránulos es entre 0.5 y 80% para estos últimos casos). Dichas composiciones sólidas se pueden usar opcionalmente en forma de un líquido que sea viscoso en mayor o menor grado, dependiendo del tipo de aplicación deseada, por ejemplo, diluyendo en agua.

10 Como formas de composición líquidas o formas destinadas a constituir composiciones líquidas durante la aplicación, se pueden mencionar soluciones, en particular concentrados solubles en agua, emulsiones, concentrados en suspensión, polvos humectables (o polvo asperjable), aceites y ceras.

15 Los concentrados en suspensión, que se pueden aplicar por aspersión, se preparan de modo de obtener un producto fluido estable que no forme un depósito y generalmente contienen de 10 a 75% de sustancia activa, de 0.5 a 15% de surfactantes, de 0.1 a 10% de agentes tixotrópicos, de 0 a 10% de aditivos apropiados, como antiespumantes, inhibidores de la corrosión, estabilizantes, agentes de penetración y adhesivos y, como portador, agua o un líquido orgánico en el que la sustancia activa sea, o no, muy soluble: algunos sólidos orgánicos o sales inorgánicas se pueden disolver en el portador para ayudar a prevenir la sedimentación o como antihielos para el agua.

20 Las composiciones agroquímicas como las descritas en este documento se pueden usar como tales, en forma de sus formulaciones o como formas de uso preparadas a partir de ellas, tales como dispensador de aerosol, suspensión de cápsulas, concentrado de nebulización en frío, concentrado de nebulización en caliente, gránulos encapsulados, gránulos finos, concentrado fluidificable para el tratamiento de semillas, soluciones listas para usar, polvo de espolvorear, concentrado emulsionable, emulsión de aceite en agua, emulsión de agua en aceite, macrogránulos, microgránulos, polvo dispersable en aceite, concentrado fluidificable miscible en aceite, líquido miscible en aceite, espuma, pasta, semillas recubiertas con un pesticida, concentrado en suspensión (concentrado fluidificable), suspensiones-emulsiones-concentradas, concentrado soluble, suspensiones, polvo soluble, gránulos, 25 gránulos o comprimidos solubles en agua, polvo soluble en agua para el tratamiento de semillas, polvo humectable, materiales naturales y sintéticos impregnados con compuesto activo, microencapsulación en materiales poliméricos y en envolturas para semillas, así como formulaciones de ULV de nebulización en frío y en caliente, gas (bajo presión), producto generador de gas, tabillitas impregnadas, polvo para tratamiento de semillas en seco, solución para tratamiento de semillas, líquido de ultra bajo volumen (ULV), suspensión de ultra bajo volumen (ULV), gránulos o comprimidos dispersables en agua, polvo dispersable en agua para tratamiento con estiércol líquido.

30 Estas formulaciones se preparan de manera conocida mezclando los compuestos activos o combinaciones de los compuestos activos con aditivos habituales, como, por ejemplo, expansores habituales y también solventes o diluyentes, emulsionantes, dispersantes y/o agentes de unión o fijación, humectantes, repelentes de agua, si es apropiado secantes y estabilizadores UV, colorantes, pigmentos, despumantes, conservantes, espesantes secundarios, adhesivos, giberelinas y agua, así como otros auxiliares de procesamiento.

35 Estas composiciones incluyen no sólo composiciones que están listas para aplicarse a la planta o semilla a tratar por medio de un dispositivo adecuado, como un dispositivo de aspersión o pulverización, sino también composiciones comerciales concentradas que se deben diluir antes de la aplicación al cultivo.

[Métodos de protección o tratamiento de plantas]

40 En ciertos aspectos, la presente divulgación proporciona métodos para proteger o tratar una planta o una parte de una planta de una infección u otra interacción biológica con un fitopatógeno, que comprenden al menos el paso de aplicar directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta, una composición agroquímica como las dadas a conocer en este documento, en condiciones eficaces para proteger o tratar la planta o una parte de la planta contra esa infección o interacción biológica con el fitopatógeno.

45 En realizaciones particulares, estos métodos comprenden aplicar directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta una composición agroquímica como la dada a conocer aquí, en una dosis de aplicación superior a 50 g de la composición agroquímica por hectárea, por ejemplo, pero no exclusivamente, una dosis de aplicación superior a 75 g de la composición agroquímica por hectárea, por ejemplo una dosis de aplicación superior a 100 g de la composición agroquímica por hectárea, o en particular una dosis de aplicación superior a 200 g de la composición agroquímica por hectárea.

50 En realizaciones particulares, estos métodos comprenden aplicar directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta una composición agroquímica como la dada a conocer aquí, en una dosis de aplicación entre 50 y 100 g de la composición agroquímica por hectárea, por ejemplo, pero no exclusivamente, una dosis de aplicación entre 50 g y 200 g de la composición agroquímica por hectárea, en particular una dosis de aplicación entre 75 g y 175 g de la

composición agroquímica por hectárea, por ejemplo entre 75 g y 150 g de la composición agroquímica por hectárea o entre 75 g y 125 g por hectárea.

5 En otra realización más, la divulgación proporciona métodos para combatir plagas vegetales, donde los métodos comprenden aplicar una composición agroquímica o de control biológico de acuerdo con la divulgación a una planta, como un cultivo, o a una parte de una planta o un cultivo, en una dosis de aplicación inferior a 50 g de dicho polipéptido por hectárea. En realizaciones específicas la dosis de aplicación es inferior a 45 g/ha, inferior a 40 g/ha, inferior a 35 g/ha, inferior a 30 g/ha, inferior a 25 g/ha, inferior a 20 g/ha, inferior a 15 g/ha, inferior a 10 g/ha, inferior a 5 g/ha, inferior a 1 g/ha o incluso cantidades inferiores de polipéptido/ha.

10 Se entiende que dependiendo del cultivo y de la presión ambiental de la plaga vegetal el agricultor puede variar la dosis de aplicación. Estas variaciones en las dosis de aplicación se especifican en la hoja técnica suministrada con la composición agroquímica específica.

Aún en otra realización, la divulgación proporciona el uso de composiciones agroquímicas o de control biológico de la divulgación, para combatir plagas vegetales.

15 La aplicación a un cultivo de una composición agroquímica o de control biológico de acuerdo con la divulgación se puede hacer utilizando cualquier método adecuado para aplicar una composición agroquímica o de control biológico a un cultivo, que incluye, entre otros, aspersión (incluidas aspersiones de alto volumen (HV), bajo volumen (LV) y ultra bajo volumen (ULV), cepillado, desinfección, goteo, recubrimiento, baño de desinfección, inmersión, dispersión, nebulización, aplicación como gotas pequeñas, niebla o aerosol.

20 Por lo tanto, en realizaciones particulares, los métodos para proteger o tratar una planta o una parte de una planta de una infección u otra interacción biológica con un fitopatógeno como se describe en este documento, comprenden aplicar la composición agroquímica directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta mediante aspersión, atomización, aplicación de espuma, nebulización, cultivo en hidrocultivo, cultivo en hidroponía, recubrimiento, sumersión y/o incrustación.

25 En ciertas realizaciones particulares, la presente divulgación proporciona métodos para inhibir, prevenir, reducir o controlar el crecimiento de un fitopatógeno, que comprenden al menos el paso de aplicar directa o indirectamente a una planta o a una parte de dicha planta, una composición agroquímica como la dada a conocer aquí.

30 En ciertas otras realizaciones, la presente divulgación proporciona métodos para matar un fitopatógeno, que comprenden al menos el paso de aplicar directa o indirectamente a una planta o a una parte de dicha planta, una composición agroquímica como la dada a conocer aquí.

35 La dosis de aplicación de la composición agroquímica de acuerdo con la divulgación, es decir la cantidad de composición agroquímica que se aplica al cultivo, es tal que menos de 50 g, 45 g, 40 g, 35 g, 30 g, 25 g, 20 g, 15 g, 10 g, 5 g, 1 g o incluso menos de 1 g del polipéptido contenido en la composición agroquímica o de control biológico de la divulgación, es aplicado el cultivo por hectárea.

40 Según los métodos dados a conocer en este documento, la composición agroquímica o de control biológico se puede aplicar una vez al cultivo, o se puede aplicar dos o tres veces, una después de la otra, con un intervalo entre cada dos aplicaciones. Según el método de la presente divulgación, la composición agroquímica o de control biológico de acuerdo con la divulgación se puede aplicar al cultivo sola o mezclada con otros materiales, preferentemente otras composiciones agroquímicas o de control biológico; alternativamente, la composición agroquímica o de control biológico de acuerdo con la divulgación se puede aplicar al cultivo por separado de otros materiales, preferentemente otras composiciones agroquímicas o de control biológico aplicadas en diferentes momentos al mismo cultivo. De acuerdo con el método de la presente divulgación, la composición agroquímica o de control biológico de acuerdo con la divulgación, se puede aplicar profilácticamente al cultivo, o alternativamente, se puede aplicar al cultivo particular que se va a tratar una vez que se ha identificado la plaga.

45 Las composiciones agroquímicas como las dadas a conocer aquí se pueden aplicar directamente a una planta, un cultivo o a una o más partes de la planta mediante los métodos mencionados previamente, como por ejemplo directamente a toda la planta o directamente a una o más partes de la planta, ya sea en una etapa precosecha como postcosecha. En ciertas otras realizaciones, las composiciones agroquímicas dadas a conocer aquí, se pueden aplicar directamente a una o más partes de la planta mediante los métodos mencionados previamente, por ejemplo directamente a los pedúnculos, hojas, tubérculos, tallos, brotes, las semillas, los frutos, las raíces, las flores, granos, los capullos, etc.

50 El método de tratamiento dado a conocer en este documento también se puede usar en el campo de la protección de mercaderías almacenables contra el ataque de fitopatógenos. De acuerdo con la presente divulgación, la expresión "mercaderías almacenables" se entiende que significa sustancias naturales de origen vegetal o animal y sus formas procesadas, que han sido tomadas del ciclo natural de la vida y para las cuales se desea una protección a largo plazo. Las mercaderías almacenables de origen vegetal, como plantas o partes de plantas, por ejemplo tallos, hojas, tubérculos, semillas, frutas o granos, se pueden proteger en su estado recién cosechado o en forma procesada, como pre-secadas, humedecidas, pulverizadas, molidas, prensadas o tostadas. También está comprendida por la definición de mercaderías almacenables la madera, ya sea en forma de madera cruda como maderos de construcción, torres de alta tensión y barreras, o en forma de artículos terminados, como muebles u objetos hechos de madera. Las mercaderías almacenables de origen animal son pieles sin curtir, cuero, pieles, pelos y similares. Las combinaciones de acuerdo con la presente divulgación pueden prevenir efectos desventajosos como

la descomposición, la decoloración o el enmohecimiento. Preferentemente se entiende que "mercaderías almacenables" indica sustancias naturales de origen vegetal y sus formas procesadas, más preferentemente frutas y sus formas procesadas, como frutas pomáceas, frutas de hueso, frutas blandas y frutas cítricas y sus formas procesadas.

5 Las composiciones agroquímicas como las dadas a conocer aquí, también se pueden aplicar indirectamente a una planta, un cultivo o a una o más partes de la planta mediante los métodos mencionados previamente, como por ejemplo indirectamente a toda la planta o indirectamente a una o más partes de la planta, ya sea en una etapa precosecha como postcosecha. Por lo tanto, en ciertas realizaciones, las composiciones agroquímicas como las  
10 dadas a conocer aquí, se pueden aplicar indirectamente a una planta, un cultivo o a una o más partes de la planta mediante los métodos mencionados previamente, por ejemplo aplicando la composición agroquímica al entorno o el medio en el cual la planta o la una o más partes de la planta están creciendo o están almacenadas, como por ejemplo, pero no exclusivamente, al aire, el suelo, el cultivo hidropónico, el hidrocultivo o el medio líquido, como por ejemplo el medio líquido acuoso o agua, en el cual la planta o la una o más partes de la planta están creciendo o  
15 están almacenadas.

Por lo tanto, se debe entender en general en el contexto de esta solicitud, que el tratamiento de las plantas y partes de las plantas con las composiciones agroquímicas descritas, se lleva a cabo directamente o por acción sobre su ambiente, habitat o área de almacenamiento mediante métodos de tratamiento normales, por ejemplo mediante  
20 riego (empapando), irrigación por goteo, aspersión, vaporización, atomización, difusión, espolvoreo, aplicación de espuma, esparcimiento, y como un polvo. Es posible además aplicar las composiciones mediante el método del ultra bajo volumen, o inyectar la preparación del compuesto activo o el compuesto activo en sí mismo en el suelo.

En realizaciones particulares, los métodos para proteger o tratar una planta o una parte de una planta de una infección u otra interacción biológica con un fitopatógeno como se describe en este documento, comprenden aplicar  
25 la composición agroquímica directa o indirectamente a la planta o a una parte de la planta ya sea en una etapa precosecha como poscosecha.

De acuerdo con realizaciones específicas, el producto cosechado es una fruta, flor, nuez u hortaliza, una fruta u hortaliza con cáscara no comestible, elegida preferentemente entre aguacates, bananas, plátanos, limones, pomelos, melones, naranjas, piñas, kiwis, guayabas, mandarinas, mangos y calabazas, más preferentemente  
30 bananas, naranjas, limones y melocotones, en particular bananas. De acuerdo con otras realizaciones específicas, el producto cosechado es una flor cortada de una planta ornamental, elegida preferentemente entre astromelia, clavel, crisantemo, fresia, gerbera, gladiolo, aliento de bebé (*Gypsophila spec*), margarita, hortensia, lirio, lisianthus, rosas y flores de verano.

Las especies de plantas a las que se pueden aplicar las composiciones agroquímicas descritas en este documento pueden ser, por ejemplo, entre otras, maíz, soja, alfalfa, algodón, girasol, semillas de aceite de Brassica como  
35 *Brassica napus* (por ejemplo, canola, colza), *Brassica rapa*, *B. juncea* (por ejemplo, mostaza) y *Brassica carinata*, *Arecaceae sp.* (por ejemplo, aceite de palma, de coco), arroz, trigo, remolacha azucarera, caña de azúcar, avena, centeno, cebada, mijo y sorgo, triticale, lino, frutos secos, uvas y vid, y varias frutas y hortalizas de diversos taxones botánicos, p. ej. *Rosaceae sp.* (por ej., frutas pomáceas como manzanas y peras, pero también frutas de hueso como albaricoques, cerezas, almendras, ciruelas y melocotones, y bayas como fresas, frambuesas, grosellas rojas y  
40 negras y grosellas verdes), *Ribesioideae sp.*, *Juglandaceae sp.*, *Betulaceae sp.*, *Anacardiaceae sp.*, *Fagaceae sp.*, *Moraceae sp.*, *Oleaceae sp.* (por ejemplo, olivo), *Actinidaceae sp.*, *Lauraceae sp.* (por ejemplo, aguacate, canela, alcanfor), *Musaceae sp.* (por ejemplo, árboles y plantaciones de plátano), *Rubiaceae sp.* (por ejemplo, café), *Theaceae sp.* (por ejemplo, té), *Sterculiaceae sp.*, *Rutaceae sp.* (por ejemplo, limones, naranjas, mandarinas y pomelos); *Solanaceae sp.* (por ejemplo, tomates, patatas, pimientos, ají, berenjenas, tabaco), *Liliaceae sp.*, *Compositae sp.* (por ejemplo, lechuga, alcachofas y achicoria, incluidas la raíz de achicoria, endibia o achicoria común), *Umbelliferae sp.* (por ejemplo, zanahorias, perejil, apio y apio nabo), *Cu-curbitaceae sp.* (por ejemplo, pepinos, incluidos pepinillos, calabazas gigantes, sandías, calabazas y melones), *Alliaceae sp.* (por ejemplo, puerros y cebollas), *Cruciferae sp.* (por ejemplo, col blanca, col roja, brócoli, coliflor, coles de Bruselas, pak choi, colinabo, rábanos, rábano picante, berro y col china), *Leguminosae sp.* (por ejemplo, cacahuets, guisantes, lentejas y frijoles, por ejemplo, frijoles comunes y habas), *Chenopodiaceae sp.* (por ejemplo, acelga suiza, remolacha forrajera, espinaca, remolacha), *Linaceae sp.* (por ejemplo, cáñamo), *Cannabaceae sp.* (por ejemplo, cannabis), *Malvaceae sp.* (por ejemplo, okra, cacao), *Papaveraceae* (por ejemplo, Poppy), *Asparagaceae* (por ejemplo, espárragos); plantas útiles y plantas ornamentales en el jardín y bosques, incluidas césped, grama, pasto y *Stevia rebaudiana*; y  
55 en cada caso los tipos genéticamente modificados de estas plantas.

En una realización preferida de los métodos de tratamiento dados a conocer aquí, el cultivo se elige del grupo que consiste en cultivos de campo, pastos, frutas y hortalizas, gramas, árboles y plantas ornamentales.

60 En ciertos aspectos, la presente divulgación también proporciona, por lo tanto, métodos de tratamiento postcosecha para proteger o tratar una planta cosechada o una parte cosechada de una planta de una infección u otra interacción biológica con un fitopatógeno, que comprenden al menos el paso de aplicar directa o indirectamente a la planta cosechada o a la parte cosechada de la planta, una composición agroquímica como la dada a conocer en este documento, en condiciones eficaces para proteger o tratar la planta cosechada o una parte cosechada de la planta

contra la infección o interacción biológica con el fitopatógeno. De acuerdo con realizaciones específicas, el producto cosechado es una fruta, flor, nuez u hortaliza, una fruta u hortaliza con cáscara no comestible, elegida preferentemente entre aguacates, bananas, plátanos, limones, pomelos, melones, naranjas, piñas, kiwis, guayabas, mandarinas, mangos y calabazas, más preferentemente bananas, naranjas, limones y melocotones, en particular bananas. De acuerdo con otras realizaciones específicas, el producto cosechado es una flor cortada de una planta ornamental, elegida preferentemente entre astromelia, clavel, crisantemo, fresia, gerbera, gladiolo, aliento de bebé (*Gypsophila spec.*), margarita, hortensia, lirio, lisianthus, rosas y flores de verano. De acuerdo con otras realizaciones específicas, el producto cosechado es pasto o madera cortados.

Los problemas postcosecha son por ej. manchas de lenticela, quemaduras, decaimiento por senescencia, picadura amarga, escaldadura, corazón acuoso, pardeamiento, descomposición vascular, lesión por CO<sub>2</sub>, deficiencia de CO<sub>2</sub> u O<sub>2</sub> y ablandamiento. Las enfermedades fúngicas pueden ser causadas, por ejemplo, por los hongos siguientes: *Mycosphaerella spp.*, *Mycosphaerella musae*, *Mycosphaerella fragariae*, *Mycosphaerella citri*; *Mucor spp.*, por ej. *Mucor piriformis*; *Monilinia spp.*, por ej. *Monilinia fructigena*, *Monilinia laxa*; *Phomopsis spp.*, *Phomopsis natalensis*; *Colletotrichum spp.*, por ej. *Colletotrichum musae*, *Colletotrichum gloeosporioides*, *Colletotrichum coccodes*; *Verticillium spp.*, por ej. *Verticillium theobromae*; *Nigrospora spp.*; *Botrytis spp.*, por ej. *Botrytis cinerea*; *Diplodia spp.*, por ej. *Diplodia citri*; *Pezizula spp.*; *Alternaria spp.*, por ej. *Alternaria citri*, *Alternaria alternata*; *Septoria spp.*, por ej. *Septoria depressa*; *Venturia spp.*, por ej. *Venturia inaequalis*, *Venturia pyrina*; *Rhizopus spp.*, por ej. *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus oryzae*; *Glomerella spp.*, por ej. *Glomerella cingulata*; *Sclerotinia spp.*, por ej. *Sclerotinia fruticola*; *Ceratocystis spp.*, por ej. *Ceratocystis paradoxa*; *Fusarium spp.*, por ej. *Fusarium semitectum*, *Fusarium moniliforme*, *Fusarium solani*, *Fusarium oxysporum*; *Cladosporium spp.*, por ej. *Cladosporium fulvum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Cladosporium cucumerinum*, *Cladosporium musae*; *Penicillium spp.*, por ej. *Penicillium funiculosum*, *Penicillium expansum*, *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*; *Phytophthora spp.*, por ej. *Phytophthora citrophthora*, *Phytophthora fragariae*, *Phytophthora cactorum*, *Phytophthora parasitica*; *Phacydiopycnis spp.*, por ej. *Phacydiopycnis malirum*; *Gloeosporium spp.*, por ej. *Gloeosporium album*, *Gloeosporium perennans*, *Gloeosporium fructigenum*, *Gloeosporium singulata*; *Geotrichum spp.*, por ej. *Geotrichum candidum*; *Phlyctaena spp.*, por ej. *Phlyctaena vagabunda*; *Cylindrocarpon spp.*, por ej. *Cylindrocarpon mail*; *Stemphyllium spp.*, por ej. *Stemphyllium vesica um*; *Thielaviopsis spp.*, por ej. *Thielaviopsis paradoxy*; *Aspergillus spp.*, por ej. *Aspergillus niger*, *Aspergillus carbonari us*; *Nectria spp.*, por ej. *Nectria galligena*; *Cercospora spp.*, por ej. *Cercospora angreci*, *Cercospora apii*, *Cercospora atrofiliformis*, *Cercospora musae*, *Cercospora zaeae-maydis*.

En otros aspectos, la presente divulgación proporciona usos de las composiciones agroquímicas dadas a conocer en este documento como agentes antiplaga, como por ejemplo un biostático o un pesticida, incluidos, pero no exclusivamente, un fungistático o un fungicida.

En una realización particular, las placas combatidas por el método según la presente divulgación son hongos fitopatógenos, según se definieron antes. Se pueden disminuir la cantidad de lesiones, el tamaño de las lesiones y la magnitud de la esporulación de los patógenos fúngicos como resultado de la aplicación del método según la presente divulgación.

[Métodos de producción y fabricación de secuencias de dominios variables de cadena pesada]

La divulgación proporciona además métodos para preparar o generar las secuencias de los dominios variables de cadena pesada, así como métodos para producir ácidos nucleicos que los codifican y células huésped, productos y composiciones que contienen estas secuencias de dominios variables de cadena pesada. Algunos ejemplos preferidos, pero no limitantes, de dichos métodos se tornarían evidentes a partir de la descripción más detallada en este documento.

Como será evidente para los expertos en la materia, un método particularmente útil para preparar secuencias de dominios variables de cadena pesada como las dadas a conocer, comprende generalmente los pasos de:

- (a) expresar una secuencia de nucleótidos que codifica una secuencia de un dominio variable de una cadena pesada según se describe en este documento, o un vector o una construcción genética una secuencia de nucleótidos que codifica esa secuencia de un dominio variable de una cadena pesada y
- (b) opcionalmente aislar y/o purificar la secuencia del dominio variable de una cadena pesada.

En realizaciones particulares previstas en este documento, se puede obtener una secuencia de un dominio variable de una cadena pesada específica para una plaga, mediante métodos que implican generar una biblioteca aleatoria de secuencias de aminoácidos y cribar esa biblioteca en busca de una secuencia de aminoácidos capaz de unirse específicamente a un esfingolípido diana.

Consecuentemente, en realizaciones particulares, los métodos para preparar una secuencia de un dominio variable de una cadena pesada según se describe aquí comprenden los pasos de:

- a) proporcionar un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de aminoácidos de secuencias de dominios variables de cadena pesada; y

b) cribar dicho conjunto, colección o biblioteca de secuencias de aminoácidos en busca de secuencias de aminoácidos que se puedan unir a, y/o tengan afinidad por, el esfingolípido diana.

y

5 c) aislar la secuencia o secuencias de aminoácidos que se pueden unir a, y/o tienen afinidad por, el esfingolípido diana.

En dicho método, el conjunto, colección o biblioteca de secuencias de aminoácidos puede ser cualquier conjunto, colección o biblioteca de secuencias de aminoácidos adecuado. Por ejemplo, el conjunto, colección o biblioteca de secuencias de aminoácidos puede ser un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de fragmentos de inmunoglobulina (según se describió aquí), como un conjunto, colección o biblioteca no inmune (naive) de secuencias de fragmentos de inmunoglobulina; un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de fragmentos de inmunoglobulina sintéticas o semisintéticas y/o un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de fragmentos de inmunoglobulina que han sido sometidas a maduración de la afinidad.

15 En realizaciones particulares de este método, el conjunto, colección o biblioteca de secuencias de aminoácidos puede ser un conjunto, colección o biblioteca inmune de secuencias de fragmentos de inmunoglobulina, por ejemplo derivadas de un mamífero que ha sido adecuadamente inmunizado con un esfingolípido diana o con un determinante antigénico adecuado basado en éste o derivado de éste, como una parte, un fragmento, una región, un dominio o un bucle antigénicos u otro epítipo de éste. En un aspecto particular, dicho determinante antigénico puede ser una parte, una región, un dominio o un bucle extracelulares u otros epítopos extracelulares.

En los métodos anteriores, el conjunto, colección o biblioteca de las secuencias de aminoácidos se puede presentar en un fago, fagémido, ribosoma o microorganismo adecuado (como una levadura), de modo de facilitar el cribado. Los métodos, las técnicas y los organismos huésped adecuados para presentar y cribar (un conjunto, colección o biblioteca de) secuencias de aminoácidos, serán evidentes para los expertos en el área, por ejemplo basándose en la divulgación detallada de este documento. También se hace referencia a la revisión por Hoogenboom en Nature Biotechnology, 23, 9, 1105-1116 (2005).

En otras realizaciones, los métodos para generar las secuencias de dominio variable de cadena pesada según se describen aquí, comprenden al menos los pasos de:

a) proporcionar una colección o muestra de células que expresen secuencias de aminoácidos de dominios variables de cadena pesada;

35 b) cribar dicha colección o muestra de células en busca de células que expresen una secuencia de aminoácidos que se pueda unir a, y/o tenga afinidad por, un esfingolípido diana;

y

c) o bien (i) aislar dicha secuencia de aminoácidos; o (ii) aislar de dicha célula una secuencia de ácido nucleico que codifique dicha secuencia de aminoácidos, seguido de la expresión de dicha secuencia de aminoácidos.

40 La colección o muestra de células puede ser por ejemplo una colección o muestra de linfocitos B. Asimismo, en este método, la muestra de células se puede derivar de un mamífero que haya sido inmunizado adecuadamente con una diana fúngica o con un determinante antigénico adecuado basado en ésta o derivado de ésta, como una parte, un fragmento, una región, un dominio o un bucle antigénicos u otro epítipo de ésta. En una realización particular, el determinante antigénico puede ser una parte, una región, un dominio o un bucle extracelulares u otros epítopos extracelulares.

En otras realizaciones, los métodos para generar una secuencia de un dominio variable de una cadena pesada dirigida contra un esfingolípido diana comprende al menos los pasos de:

50 a) proporcionar un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de ácido nucleico que codifiquen una secuencia de aminoácidos de un dominio variable de una cadena pesada; y

b) cribar tal conjunto, colección o biblioteca de secuencias de ácido nucleico en busca de secuencias de ácido nucleico que codifiquen una secuencia de aminoácidos que se pueda unir a, y/o tenga afinidad por, el esfingolípido diana.

55 y

c) aislar dicha secuencia de ácido nucleico, seguido de la expresión de dicha secuencia de aminoácidos.

En los métodos anteriores, el conjunto, colección o biblioteca de secuencias de ácido nucleico que codifican secuencias de aminoácidos puede, ser por ejemplo, un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de ácido nucleico que codifican un conjunto, colección o biblioteca no inmune de secuencias de fragmentos de inmunoglobulina; un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de ácido nucleico que codifican un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de fragmentos de inmunoglobulina sintéticas o semisintéticas; y/o un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de ácido nucleico que codifican un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de fragmentos de inmunoglobulina que han sido sometidas a maduración de la afinidad.

En particular, en dicho método, el conjunto, la colección o biblioteca de secuencias de ácido nucleico codifica un conjunto, colección o biblioteca de dominios variables de cadena pesada (como dominios  $V_H$  o dominios  $V_{HH}$ ). Por ejemplo, el conjunto, la colección o biblioteca de secuencias de ácido nucleico puede codificar un conjunto, colección o biblioteca de anticuerpos de dominio o anticuerpos de dominio único, o un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de aminoácidos que son capaces de funcionar como un anticuerpo de dominio o un anticuerpo de dominio único. En realizaciones específicas, el conjunto, colección o biblioteca de secuencias de nucleótidos codifica un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de  $V_{HH}$ .

En los métodos anteriores, el conjunto, colección o biblioteca de las secuencias de nucleótidos se puede presentar en un fago, fagémido, ribosoma o microorganismo adecuado (como una levadura), de modo de facilitar el cribado. Los métodos, las técnicas y los organismos huésped adecuados para presentar y cribar (un conjunto, colección o biblioteca de) secuencias de nucleótidos que codifican secuencias de aminoácidos, serán evidentes para los expertos en el área, por ejemplo basándose en la divulgación detallada de este documento. También se hace referencia a la revisión por Hoogenboom en *Nature Biotechnology*, 23, 9, 1105-1116 (2005).

La divulgación también se refiere a secuencias de aminoácidos que se pueden obtener u obtenidas por los métodos anteriores, o alternativamente por un método que comprenda uno de los métodos anteriores y además al menos los pasos de determinar la secuencia de nucleótidos o secuencia de aminoácidos de dicha secuencia de inmunoglobulina; y de expresar o sintetizar dicha secuencia de aminoácidos de manera conocida per se, como mediante expresión en una célula huésped o un organismo huésped adecuado o por síntesis química.

[Aislamiento de dominios variables de cadena pesada]

En algunos casos, los métodos para producir las secuencias de aminoácidos que se unen específicamente a una diana fúngica como se prevé en este documento pueden comprender además el paso de aislar de la biblioteca de secuencias de aminoácidos al menos un dominio variable de una cadena pesada que tenga una afinidad de unión detectable por, o un efecto *in vitro* detectable sobre, un esfingolípido diana.

Estos métodos pueden comprender además el paso de amplificar una secuencia que codifique al menos un dominio variable de una cadena pesada que tenga afinidad de unión detectable por, o un efecto *in vitro* detectable sobre la actividad de, un esfingolípido diana. Por ejemplo, un clon fágico que presente una secuencia de aminoácidos particular, obtenida partir de un paso de selección de un método descrito en este documento, se puede amplificar por reinfección de una bacteria huésped e incubación en un medio de cultivo.

En realizaciones particulares, estos métodos pueden abarcar la determinación de la secuencia de la una o más secuencias de aminoácidos capaces de unirse a un esfingolípido diana.

Cuando una secuencia de un dominio variable de una cadena pesada, contenida en un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de aminoácidos, es presentada en una célula o un fago o una partícula adecuados, es posible aislar de dichas célula o dicho fago o dicha partícula la secuencia de nucleótidos que codifica esa secuencia de aminoácidos. De esta manera, la secuencia de nucleótidos del miembro o los miembros elegidos de la biblioteca de secuencia de aminoácidos se puede determinar por un método de secuenciación de rutina.

En otras realizaciones particulares, los métodos para producir un dominio variable de una cadena pesada según se prevé en este documento comprenden el paso de expresar dicha secuencia o secuencias de nucleótidos en un organismo huésped en condiciones adecuadas, de manera de obtener la secuencia de aminoácidos real deseada. Este paso se puede realizar por métodos conocidos por los expertos en el área.

Además, las secuencias de dominios variables de cadena pesada obtenidas que tienen una afinidad de unión detectable por, o un efecto *in vitro* detectable sobre la actividad de, un esfingolípido diana, pueden ser sintetizadas como construcciones de proteínas solubles, opcionalmente después de que su secuencia ha sido identificada.

Por ejemplo, las secuencias de dominios variables de cadena pesada obtenidas, que se pueden obtener o seleccionar por los métodos anteriores, se pueden sintetizar usando métodos recombinantes o de síntesis química conocidos en el área. Asimismo, las secuencias de aminoácidos obtenidas, que se pueden obtener o seleccionar por los métodos anteriores se pueden producir por técnicas de ingeniería genética. Por lo tanto, los métodos para sintetizar las secuencias de dominio variable de cadena pesada obtenidas, que se pueden obtener o seleccionar por los métodos anteriores, pueden comprender la transformación o infección de una célula huésped con un ácido nucleico o un vector que codifique una secuencia de aminoácidos que tenga una afinidad de unión detectable por, o un efecto detectable *in vitro* sobre la actividad de, un esfingolípido diana. Consecuentemente, las secuencias de aminoácidos que tienen afinidad de unión detectable por, o un efecto detectable *in vitro* sobre la actividad de, un esfingolípido diana se pueden preparar por métodos de ADN recombinante. El ADN que codifica la secuencia de aminoácidos puede ser fácilmente sintetizado usando procedimientos convencionales. Una vez preparado, el ADN se puede introducir en vectores de expresión, que después se pueden transformar o transfectar en células huésped como *E. coli* o cualquier sistema de expresión adecuado, a fin de obtener la expresión de secuencias de

aminoácidos en las células huésped recombinantes y/o en el medio en el cual residen esas células huésped recombinantes.

5 Se debe entender, como es sabido por alguien con experiencia en el tema de la expresión y purificación de proteínas, que el dominio variable de una cadena pesada producido a partir de un vector de expresión utilizando un sistema de expresión adecuado, puede ser marcado (generalmente en el extremo N-terminal o el extremo C-terminal de la secuencia de aminoácidos), por ejemplo, con una secuencia marcadora His-tag u otra secuencia tag para una purificación fácil.

10 La transformación o transfección de ácidos nucleicos o vectores en células huésped se puede realizar por diversos medios conocidos por los expertos en el tema que incluyen coprecipitación de fosfato de calcio-ADN, transfección mediada por DEAE-dextrano, transfección mediada por polibreno, electroporación, microinyección, fusión de liposomas, lipofección, fusión de protoplastos, infección retroviral y biolística.

15 Pueden ser células huésped adecuadas para la expresión de las secuencias de dominios variables de cadena pesada deseadas, cualquier célula eucariota o procariota (por ej. células bacterianas como E. coli, células de levaduras, células de mamíferos, células de aves, células de anfibios, células vegetales, células de peces y células de insectos), ya estén ubicadas *in vitro* o *in vivo*. Por ejemplo, las células huésped pueden estar ubicadas en una planta transgénica.

20 Por lo tanto, la solicitud también proporciona métodos para la producción de secuencias de dominios variables de cadena pesada que tengan una afinidad de unión detectable por, o tengan un efecto detectable *in vitro* sobre la actividad de, un esfingolípido diana, que comprenden transformar, transfectar o infectar una célula huésped con secuencias de ácido nucleico o vectores que codifiquen dichas secuencias de aminoácidos y expresar las secuencias de aminoácidos en condiciones adecuadas.

25 Aún en otra realización, la divulgación proporciona además métodos para la fabricación de ('o la producción de' que es una redacción equivalente) una composición agroquímica o de control biológico como la dada a conocer en este documento.

30 En realizaciones particulares, la divulgación proporciona métodos para producir una composición agroquímica como la dada a conocer en este documento, que comprenden al menos los pasos de:

- 35 - obtener al menos un dominio variable de una cadena pesada de un anticuerpo ( $V_{HH}$  o  $V_H$ ) o un fragmento funcional de éste, que se una específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno, y
- formular dicho dominio variable de una cadena pesada o el fragmento funcional de éste en una composición agroquímica.

40 En realizaciones particulares de estos métodos, el paso de obtener al menos un dominio variable de una cadena pesada o un fragmento funcional de éste, que se una específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno comprende:

- 45 (a) expresar una secuencia de nucleótidos que codifica un dominio variable de una cadena pesada o un fragmento funcional de éste, que se une específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno y, opcionalmente,
- (b) aislar y/o purificar el dominio variable de la cadena pesada o el fragmento funcional de éste.

50 En otras realizaciones particulares de estos métodos, el paso de obtener al menos un dominio variable de una cadena pesada o un fragmento funcional de éste, que se una específicamente a un esfingolípido de un fitopatógeno comprende:

- a) proporcionar un conjunto, colección o biblioteca de secuencias de dominios variables de cadena pesada o fragmentos funcionales de secuencias de dominios variables de cadena pesada;
- 55 b) cribar tal conjunto, colección o biblioteca de secuencias de dominios variables de cadena pesada o secuencias de fragmentos funcionales de éstos en busca de secuencias que se unan específicamente a, y/o tengan afinidad por, un esfingolípido de un fitopatógeno, y opcionalmente,
- c) aislar las secuencias de dominios variables de cadena pesada o secuencias de fragmentos funcionales de éstos, que se unan específicamente a, y/o tengan afinidad por, un esfingolípido de un fitopatógeno.

60 La presente solicitud da a conocer además métodos para la fabricación de ('o la producción de' que es una redacción equivalente) una composición agroquímica o de control biológico como la dada a conocer en este documento, que comprende la formulación de una secuencia de aminoácidos o polipéptido de 80 a 200 aminoácidos, o de otros subrangos adecuados según se definió aquí precedentemente, con actividad pesticida junto con al menos un auxiliar agroquímico habitual.

Los métodos de fabricación adecuados son conocidos en el área e incluyen, pero no exclusivamente, mezcla con alto o bajo cizallamiento, molienda en húmedo o en seco, fundición por goteo, encapsulación, emulsificación, recubrimiento, incrustación, machacado, granulación por extrusión, granulación en lecho fluido, coextrusión, secado por aspersión, refrigeración por aspersión, atomización, polimerización por adición o condensación, polimerización interfacial, polimerización in situ, coacervación, encapsulación por aspersión, enfriamiento de dispersiones fundidas, evaporación del solvente, separación de fases, extracción por solvente, polimerización sol-gel, recubrimiento en lecho fluido, recubrimiento en tambor, fusión, absorción pasiva o activa, o adsorción.

Específicamente, las secuencias de aminoácidos o polipéptidos de 80 a 200 aminoácidos como los dados a conocer aquí, o de otros subrangos adecuados según se definió aquí previamente, se pueden preparar por síntesis química.

Además se da a conocer que las secuencias de aminoácidos o polipéptidos de 80 a 200 aminoácidos, o de otros subrangos adecuados según se definió aquí precedentemente, se pueden preparar mediante sistemas microbianos de expresión recombinante *in vitro* y aislar para su uso posterior. Dichas secuencias de aminoácidos o polipéptidos pueden estar en lisados de células crudos, suspensiones, coloides, etc., o alternativamente se pueden purificar, refinar, tamponar y/o procesar adicionalmente antes de formularlos conjuntamente con auxiliares agroquímicos habituales.

Las metodologías específicamente recombinantes implican generalmente insertar una molécula de ADN que expresa una secuencia de aminoácidos, una proteína o un polipéptido de interés en un sistema de expresión para el cual la molécula de ADN es heteróloga (es decir no está normalmente presente en el huésped). La molécula de ADN heteróloga se inserta en el sistema de expresión o vector en el sentido de orientación apropiado y el marco de lectura correcto. El vector contiene los elementos necesarios para la transcripción y la traducción de las secuencias que codifican proteínas insertadas. La transcripción del ADN es dependiente de la presencia de un promotor. Análogamente, la traducción del ARNm en procariotas depende de la presencia de las señales procarióticas apropiadas que difieren de las de los eucariotas. Por una revisión sobre la maximización de la expresión génica, véase Roberts y Lauer, *Methods in Enzymology* 68:473 (1979). Independientemente de las secuencias reguladoras específicas empleadas, la molécula de ADN se clona en el vector empleando procedimientos de clonación estándar, como describieron Sambrook et al, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, Cold Spring Laboratory, Cold Spring Harbor, NY, 1989. Una vez que la molécula de ADN aislada que codifica la proteína, se clonó en un sistema de expresión, está pronta para ser incorporada en una célula huésped. Dicha incorporación se puede llevar a cabo mediante diversas formas de transformación, dependiendo del sistema vector/célula huésped. Las células huésped adecuadas incluyen, pero no exclusivamente, bacterias, virus, levaduras, células de mamíferos, insectos, plantas y similares. Opcionalmente, las células huésped recombinantes pueden ser células huésped que expresan un sistema de secreción funcional tipo III nativo o recombinante. Esto se describe en detalle en US 6,596,509. Como consecuencia de expresar un sistema de secreción funcional tipo III, las células expresarán el polipéptido y después secretarán la proteína en el medio del cultivo. Esto puede simplificar el aislamiento y la purificación del polipéptido. Las células huésped recombinantes se pueden cultivar en cámaras de fermentación adecuadas, preferentemente en condiciones de temperatura y nutrientes que optimicen la multiplicación de las células huésped y la expresión del polipéptido. Las personas con experiencia en la materia son capaces de identificar las condiciones óptimas para células huésped particulares. Luego de la fermentación, la suspensión bacteriana se puede, por ejemplo, diluir en, por ej. aproximadamente 2 a 5 veces el volumen de un tampón para ajustar el pH a un valor entre aproximadamente 5.5 y 10, más preferentemente a un pH entre aproximadamente 7 y 9, y aún más preferentemente a un pH de aproximadamente 8.0. Los tampones adecuados son bien conocidos en el área y pueden incluir, por ejemplo, tampón de fosfato de potasio o un tampón Tris-EDTA. La concentración del tampón puede ser entre aproximadamente 0.001 mM y aproximadamente 0.5 M. Luego del ajuste del pH, la solución en suspensión (bacteriana) se trata con calor hasta una temperatura de aproximadamente 60-130 °C, preferentemente a una temperatura de aproximadamente 95-125 °C. El tratamiento térmico se puede llevar a cabo durante cualquier período de tiempo adecuado. En una realización, el tratamiento térmico se lleva a cabo durante un período desde aproximadamente 5 minutos hasta aproximadamente 30 minutos. Después, la solución en suspensión calentada se enfría. Una temperatura de enfriamiento adecuada es, sin limitación, de aproximadamente 35-55 °C, preferentemente de aproximadamente 45 °C. Luego del enfriamiento, las células bacterianas en la suspensión bacteriana se lisan, si es necesario, para liberar el polipéptido. La lisis de las células se puede llevar a cabo, por ejemplo, poniendo en contacto la suspensión bacteriana con una lisozima. La concentración de lisozima puede ser cualquier valor entre aproximadamente 2 ppm y 100 ppm. Alternativamente, la lisis de las células puede involucrar métodos no químicos, como presión elevada o ultrasonido, los cuales son bien conocidos por los expertos en el área. Puede ser deseable, después de la lisis celular, incubar la suspensión bacteriana. Los tiempos de incubación adecuados pueden variar. Por ejemplo, puede ser deseable incubar la suspensión bacteriana durante un período de aproximadamente 30-45 minutos a una temperatura de aproximadamente 40-42 °C. Después de la lisis, el polipéptido deseado puede ser extraído mediante eliminación de los desechos celulares y las proteínas desnaturalizadas resultantes del paso de tratamiento térmico anterior. En una realización, el extracto se centrifuga durante aproximadamente 10-20 minutos para eliminar algo de los desechos celulares. Las velocidades de centrifugación adecuadas pueden ser entre aproximadamente 4000 y 20 000 rpm y el tiempo de centrifugación puede ser entre aproximadamente 10 minutos y 20 minutos. Posteriormente los desechos celulares se pueden eliminar tratando con calor y centrifugando el sobrenadante para obtener un extracto líquido que esté sustancialmente exento de desechos celulares mediante eliminación de más de aproximadamente 60%, 70%, 80%,

90% a 95% de los sólidos totales. Este tratamiento térmico subsiguiente se puede llevar a cabo a una temperatura de aproximadamente 60 °C por hasta dos horas, a aproximadamente 100 °C durante aproximadamente 10 minutos, o a aproximadamente 121 °C con 15 psi de presión durante aproximadamente 5 minutos. Estas temperaturas y estos tiempos pueden variar dependiendo de otras condiciones. El método para hacer estable una composición líquida que contiene una secuencia de aminoácidos o polipéptido según se describe en este documento, implica introducir en el extracto líquido un biocida y, opcionalmente, uno o ambos de un inhibidor de la proteasa y un surfactante no iónico, obteniendo así una composición líquida que contiene el polipéptido. En una realización, se introduce un inhibidor de la proteasa en el extracto líquido sin un surfactante no iónico. En otra realización, se introduce un surfactante no iónico en el extracto líquido sin un inhibidor de la proteasa. En otra realización, se introducen tanto el inhibidor de la proteasa como el surfactante no iónico en el extracto líquido. En otra realización más, no se introducen ni el inhibidor de la proteasa ni el surfactante no iónico en el extracto líquido. Alternativamente, la estabilidad de la composición líquida como la dada a conocer aquí se puede evaluar usando, por ejemplo, análisis de HPLC u otros procedimientos adecuados que pueden identificar la cantidad de una proteína o un polipéptido específicos. La estabilidad de las secuencias de aminoácidos o polipéptidos en una composición como la descrita en este documento se puede determinar por comparación de la cantidad de la proteína en la composición líquida envejecida con la de una composición líquida recién preparada o con una cuantificación previa realizada en la misma composición. La medición de la estabilidad de la proteína se correlaciona fuertemente con la retención de su actividad.

Los auxiliares agroquímicos habituales son bien conocidos por los expertos en la materia, e incluyen, pero no están limitados a, solventes acuosos u orgánicos, agentes tamponantes, acidificantes, surfactantes, humectantes, agentes de esparcimiento, adherentes, adhesivos, portadores, rellenos, espesantes, emulsionantes, dispersantes, secuestrantes, agentes antisedimentación, agentes de coalescencia, modificadores de la reología, despumantes, fotoprotectores, anticongelantes, biocidas, agentes de penetración, aceites minerales o vegetales, pigmentos y agentes de control de la deriva o cualquier combinación adecuada de éstos.

Aún en otra realización, la divulgación proporciona un polipéptido de 80 a 200 aminoácidos o de los subrangos dados a conocer aquí previamente, obtenido mediante selección por afinidad a una cierta plaga vegetal diana, que es capaz de inhibir el crecimiento y/o la actividad de una plaga a una concentración inhibitoria mínima de aproximadamente 0.00001 a 1 µM.

En realizaciones particulares de los métodos dados a conocer para proteger, prevenir, curar o tratar una planta de una infección por un hongo u otra interacción biológica con un hongo, las secuencias de dominios variables de cadena pesada, polipéptidos o composiciones dados a conocer en este documento se aplican directa o indirectamente a la planta por aspersión, atomización, aplicación de espuma, nebulización, en hidrocultivo/hidroponía, recubrimiento, sumersión y/o incrustación.

[Secuencias de ácido nucleico]

En otro aspecto, la presente divulgación proporciona secuencias de ácido nucleico que codifican secuencias de aminoácidos de dominios variables de cadena pesada en las composiciones dadas a conocer (o fragmentos adecuados de éstos). Estas secuencias de ácido nucleico también pueden estar en forma de un vector o una construcción genética o un polinucleótido. Las secuencias de ácido nucleico dadas a conocer en este documento pueden ser secuencias sintéticas o semisintéticas, secuencias de nucleótidos que han sido aisladas de una biblioteca (y en particular de una biblioteca de expresión), secuencias de nucleótidos que han sido preparadas por PCR empleando cebadores de superposición o secuencias de nucleótidos que han sido preparadas empleando técnicas para la síntesis de ADN conocidas per se.

[Construcciones, vectores, células huésped]

Las construcciones genéticas dadas a conocer en este documento pueden ser ADN o ARN, y son preferentemente ADN bicatenario. Las construcciones genéticas de la divulgación también pueden estar en una forma adecuada para la transformación de la célula huésped u organismo huésped deseado, en una forma adecuada para la integración en el ADN genómico de la célula huésped deseada o en una forma adecuada para la replicación independiente, el mantenimiento y/o la herencia en el organismo huésped deseado. Por ejemplo, las construcciones genéticas de la divulgación pueden estar en forma de un vector, como por ejemplo un plásmido, cósmido, YAC, un vector viral o un transposón. En particular, el vector puede ser un vector de expresión, es decir un vector que se puede proporcionar para la expresión *in vitro* y/o *in vivo* (por ej. en una célula huésped, un organismo huésped y/o un sistema de expresión adecuados).

Consecuentemente, en otro aspecto más, la presente divulgación también proporciona vectores que contienen una o más secuencias de ácido nucleico de la divulgación.

Aún en otro aspecto, la presente divulgación proporciona huéspedes o células huésped que expresan o son capaces de expresar una o más secuencias de aminoácidos como las dadas a conocer. Los ejemplos adecuados de huéspedes o células huésped para la expresión de secuencias de aminoácidos o polipéptidos de la divulgación serán evidentes para los expertos en la materia.

La solicitud también da a conocer polipéptidos de 80 a 200 aminoácidos, o de los diversos subrangos descritos aquí previamente, permanecen estables en una composición agroquímica o de control biológico, según se definió, lo que significa que la integridad y la actividad pesticida, según se definieron, del polipéptido se conservan en las condiciones de almacenamiento y/o utilización de la composición agroquímica, lo que puede incluir temperaturas elevadas, ciclos de congelación y descongelación, cambios en el pH o la fuerza iónica, irradiación UV, presencia de productos químicos perjudiciales y similares. Muy preferentemente, estos polipéptidos de 80 a 200 aminoácidos permanecen estables en la composición agroquímica cuando dicha composición se almacena a temperatura ambiente durante un período de dos años o cuando la composición agroquímica se almacena a 54 °C durante un período de dos semanas. Particularmente, los polipéptidos de 80 a 200 aminoácidos contenidos en una composición agroquímica retienen al menos aproximadamente 70% de la actividad, más particularmente al menos de aproximadamente 70% a 80% de la actividad, muy particularmente de aproximadamente 80% a 90% de la actividad, luego de haber sido almacenados en la composición agroquímica a temperatura ambiente durante un período de dos años o cuando la composición agroquímica que contiene el polipéptido se almacena a 54 °C durante un período de dos semanas.

Aún en otra realización, para usar en los métodos descritos en este documento, la solicitud da a conocer secuencias de ácido nucleico que codifican polipéptidos de 80 a 200 aminoácidos, donde los polipéptidos se obtienen mediante selección por afinidad a un fitopatógeno diana específico, y donde el polipéptido es capaz de inhibir el crecimiento y/o la actividad de una plaga de un cultivo a una concentración inhibitoria mínima de aproximadamente 0.00001 a 1 µM.

También se dan a conocer genes quiméricos que comprenden los elementos de ADN unidos operativamente siguientes: a) un promotor expresable en una planta, b) una región de ADN que cuando se transcribe produce una molécula de ARNm capaz de ser traducida en un polipéptido y c) una región del extremo 3' que comprende señales de terminación de la transcripción y de poliadenilación que funcionan en células de dicha planta.

Un "gen quimérico" o una "construcción quimérica" es una secuencia de ácido nucleico recombinante en la cual un promotor (por ej. un promotor expresable en una planta) o una secuencia de ácido nucleico reguladora está unida operativamente, o asociada a, una secuencia de ácido nucleico que codifica un ARNm, de modo que la secuencia de ácido nucleico reguladora sea capaz de regular la transcripción o la expresión de la secuencia de ácido nucleico asociada que codifica la secuencia cuando se introduce en una célula como una célula de una planta. La secuencia de ácido nucleico reguladora del gen quimérico no está normalmente unida operativamente a la secuencia de ácido nucleico asociada como se encuentra en la naturaleza.

En la presente divulgación, un "promotor vegetal" comprende elementos reguladores, que median la expresión de un segmento de una secuencia codificante en células vegetales. Para la expresión en plantas, la molécula de ácido nucleico debe estar unida operativamente a, o contener, un promotor adecuado que exprese el gen en el momento correcto y con el patrón de expresión espacial necesario.

La expresión "unido(a) operativamente" según se usa en este documento se refiere a una unión funcional entre la secuencia promotora y el gen de interés, de modo que la secuencia promotora sea capaz de iniciar la transcripción del gen de interés.

Los promotores expresables en plantas comprenden secuencias de ácido nucleico que son capaces de dirigir la expresión de un transgén en una planta. Los ejemplos de promotores expresables en plantas, son promotores constitutivos que son transcripcionalmente activos durante la mayoría, pero no necesariamente todas, las fases de crecimiento y desarrollo, y en la mayoría de las condiciones ambientales, en al menos una célula, un tejido u órgano; otros promotores son promotores inducibles, otros ejemplos son promotores específicos de tejidos, aún otros ejemplos son promotores inducibles por estrés abiótico.

El gen quimérico (o el cassette de expresión) cuando se transforma en una planta expresa un ácido nucleico que resulta en la expresión de una proteína.

También se da a conocer un vector recombinante que comprende un cassette de expresión (o un gen quimérico) según se describió aquí previamente.

El término "terminador" abarca una secuencia de control que es una secuencia de ADN en el extremo de una unidad transcripcional que señala el procesamiento y la poliadenilación 3' de un transcrito primario y la terminación de la transcripción. El terminador se puede derivar de un gen natural, de otros diversos genes de plantas, o de ADN-T. El terminador a agregar se puede derivar, por ejemplo, de los genes de la nopalina sintasa o la octopina sintasa, o alternativamente de otro gen de plantas, o menos preferentemente de cualquier otro gen eucariótico.

"Marcador seleccionable", "gen marcador seleccionable" o "gen reportero" incluye cualquier gen que confiera un fenotipo a una célula en la cual se expresa para facilitar la identificación y/o la selección de células que son transfectadas o transformadas con una construcción de ácido nucleico de la divulgación. Esto genes marcadores permiten la identificación de una transferencia exitosa de moléculas de ácido nucleico a través de una serie de principios diferentes. Los marcadores adecuados se pueden elegir entre marcadores que confieren resistencia a antibióticos o a herbicidas, que introducen una nueva característica metabólica o que permiten la selección visual. Los ejemplos de genes marcadores seleccionables incluyen genes que confieren resistencia a los antibióticos (como nptII, que fosforila la neomicina y la kanamicina o hpt, que fosforila la higromicina, o genes que confieren resistencia, por ejemplo, a bleomicina, estreptomina, tetraciclina, cloranfenicol, ampicilina, gentamicina, geneticina (G418), espectinomina o blasticidina), a herbicidas (por ejemplo, bar que proporciona resistencia a Basta®; aroA o gox que

proporcionan resistencia contra el glifosato, o los genes que confieren resistencia, por ejemplo, a imidazolinona, fosfotricina o sulfonilurea), o genes que proporcionan una característica metabólica (como manA que permite a las plantas usar manosa como única fuente de carbono o xilosa isomerasa para la utilización de xilosa, o marcadores antinutritivos como de resistencia a la 2-desoxiglucosa). La expresión de genes marcadores visuales produce la

5 formación de color (por ejemplo  $\beta$ -glucuronidasa, GUS o  $\beta$ -galactosidasa con sus sustratos coloreados, por ejemplo X-Gal), luminiscencia (como el sistema de luciferina/luciferasa) o fluorescencia (proteína fluorescente verde, GFP, y sus derivados). Esta lista representa sólo un pequeño número de posibles marcadores. Los técnicos con experiencia están familiarizados con dichos marcadores. Se prefieren diferentes marcadores, dependiendo del organismo y el método de selección.

10 Se sabe que tras la integración estable o transitoria de los ácidos nucleicos en las células vegetales, sólo una minoría de las células capta el ADN extraño y, si se desea, lo integra en su genoma, dependiendo del vector de expresión utilizado y la técnica de transfección utilizada. Para identificar y seleccionar esos integrantes, se introduce habitualmente un gen codificante de un marcador seleccionable (como los descritos antes) en las células huésped

15 junto con el gen de interés. Estos marcadores se pueden usar por ejemplo en mutantes en los cuales esos genes no son funcionales, mediante por ejemplo, eliminación por métodos convencionales. Además, las moléculas de ácido nucleico que codifican un marcador seleccionable se pueden introducir en una célula huésped en el mismo vector que contiene la secuencia codificante de los polipéptidos de la divulgación o utilizar en los métodos de la divulgación, o de lo contrario en un vector separado. Las células que han sido transfectadas establemente con el ácido nucleico introducido pueden ser identificadas por ejemplo por selección (por ejemplo células que han integrado el marcador seleccionable sobreviven en tanto las otras células mueren).

20 Dado que los genes marcadores, particularmente los genes de resistencia a los antibióticos y herbicidas, ya no son necesarios o son indeseables en la célula huésped transgénica una vez que los ácidos nucleicos han sido introducidos con éxito, el proceso según la divulgación para introducir los ácidos nucleicos emplea ventajosamente técnicas que permiten la eliminación o escisión de esos genes marcadores. Un método de ese tipo es lo que se conoce como cotransformación. El método de cotransformación emplea simultáneamente dos vectores para la

25 transformación, un vector que lleva el ácido nucleico de acuerdo con la divulgación y un segundo vector que lleva el gen o los genes marcadores. Una gran proporción de transformantes recibe o, en el caso de plantas, comprende (hasta 40% o más de los transformantes), ambos vectores. En el caso de la transformación con agrobacterias, los transformantes generalmente reciben sólo una parte del vector, es decir, la secuencia flanqueada por el ADN-T, que generalmente representa el cassette de expresión. Los genes marcadores se pueden eliminar a continuación de la planta transformada realizando cruzamientos. En otro método, los genes marcadores integrados en un transposón se usan para la transformación junto con el ácido nucleico deseado (conocido como tecnología de Ac/Ds). Los transformantes se pueden cruzar con una fuente de transposasa o los transformantes se transforman con una

30 construcción de ácido nucleico que confiere la expresión de una transposasa, transitoria o estable. En algunos casos (aproximadamente 10%), el transposón salta fuera del genoma de la célula huésped una vez que ha tenido lugar exitosamente la transformación y se pierde. En otra cantidad de casos, el transposón salta a una ubicación diferente. En esos casos el gen marcador debe ser eliminado realizando cruzamientos. En microbiología, se desarrollaron técnicas que hacen posible, o facilitan, la detección de dichos sucesos. Un método más ventajoso se basa en lo que se conoce como sistemas de recombinación; cuya ventaja es que se puede prescindir de la eliminación por

35 cruzamiento. El sistema mejor conocido de este tipo es el que se conoce como sistema Cre/lox. Cre1 es una recombinasa que elimina las secuencias ubicadas entre las secuencias loxP. Si el gen marcador se integra entre las secuencias loxP, se elimina una vez que la transformación ha tenido lugar exitosamente, mediante expresión de la recombinasa. Otros sistemas de recombinación son el sistema HIN/HIX, FLP/FRT y el REP/STB (Tribble et al., J. Biol. Chem., 275, 2000: 22255-22267; Velmurugan et al., J. Cell Biol., 149, 2000: 553-566). Es posible una

40 integración específica del sitio en el genoma de la planta, de las secuencias de ácido nucleico de acuerdo con la divulgación. Para los propósitos de la divulgación, "transgénico(a)", "transgén" o "recombinante" significan con respecto a, por ejemplo, una secuencia de ácido nucleico, un cassette de expresión, una construcción génica o un vector que contiene la secuencia de ácido nucleico o un organismo transformado con las secuencias de ácido nucleico, cassettes de expresión o vectores de acuerdo con la divulgación.

50 Una planta transgénica para los fines de la divulgación, se entiende por lo tanto que significa, como precedentemente, que los ácidos nucleicos utilizados en el método de la divulgación no están presentes en, ni se originaron del, genoma de dicha planta, o están presentes en el genoma de dicha planta pero no en su locus natural en el genoma de dicha planta, siendo posible que los ácidos nucleicos sean expresados de manera homóloga o heteróloga. Sin embargo, como se mencionó, transgénico también significa que, si bien los ácidos nucleicos de acuerdo con la divulgación o utilizados en el método de la invención están en su posición natural en el genoma de una planta, la secuencia ha sido modificada con respecto a la secuencia natural, y/o las secuencias reguladoras de las secuencias naturales han sido modificadas. Transgénico se entiende preferentemente que significa la expresión de los ácidos nucleicos de acuerdo con la divulgación en un locus no natural del genoma, es decir que tiene lugar la

55 expresión homóloga o heteróloga de los ácidos nucleicos. Las plantas transgénicas preferidas se mencionan en este documento. El término "expresión" o la expresión "expresión génica" significan la transcripción de un gen específico o de genes específicos o de construcciones genéticas específicas. El término "expresión" o la expresión "expresión génica" significan en particular la transcripción de un gen o genes o construcción genética en ARN estructural (ARNr, ARNt) o ARNm con o sin la traducción subsiguiente del último en una proteína. El proceso incluye la transcripción

60

del ADN y el procesamiento del producto de ARNm resultante.

Las expresiones "aumento de la expresión" o "sobreexpresión" según se usan en este documento significan cualquier forma de expresión que es adicional al nivel de expresión tipo silvestre original. Para los fines de esta divulgación, el nivel de expresión tipo silvestre original debería ser cero, es decir, ausencia de expresión o expresión inconmensurable.

Los métodos para aumentar la expresión de genes o productos génicos están bien documentados en el área e incluyen, por ejemplo, la sobreexpresión dirigida por promotores apropiados (como se describió previamente), el uso de potenciadores de la transcripción o de potenciadores de la traducción. Los ácidos nucleicos aislados que sirven como elementos promotores o potenciadores se pueden introducir en una posición adecuada (generalmente en dirección 5') de una forma no heteróloga de un polinucleótido, de modo de aumentar la expresión de un ácido nucleico que codifica el polipéptido de interés. Si se desea la expresión del polipéptido, es generalmente deseable incluir una región de poliadenilación en el extremo 3' de una región codificante del polinucleótido. La región de poliadenilación se puede derivar de un gen natural, de otros diversos genes de plantas, o de ADN-T. La secuencia del extremo 3' a agregar se puede derivar, por ejemplo, de los genes de la nopalina sintasa o la octopina sintasa, o alternativamente de otro gen de plantas, o menos preferentemente de cualquier otro gen eucariótico.

También se puede agregar una secuencia de intrón a la región sin traducir (UTR) 5' o la secuencia codificante de la secuencia codificante parcial para aumentar la cantidad del mensaje maduro que se acumula en el citosol. Se ha demostrado que la inclusión de un intrón empalmado en la unidad de transcripción en construcciones de expresión tanto de plantas como de animales, aumenta la expresión génica tanto en los niveles de ARNm como de proteína hasta 1000 veces (Buchman y Berg (1988) *Mol. Cell Biol.* 8: 4395-4405; Callis et al. (1987) *Genes Dev* 1 :1 183-1200). Dicho aumento de la expresión génica por parte del intrón suele ser mayor cuando se coloca cerca del extremo 5' de la unidad de transcripción. El uso de los intrones de maíz Adh1-S intrón 1, 2 y 6, el intrón Bronze-1 son conocidos en el área. Por información general véase: *The Maize Handbook*, capítulo 1 16, Freeling y Walbot, Eds., Springer, N.Y. (1994).

Los términos "introducción" o "transformación" como se mencionan en este documento abarcan la transferencia de un polinucleótido exógeno o gen quimérico (o cassette de expresión) a una célula huésped, independientemente del método utilizado para la transferencia. El tejido vegetal capaz de propagación clonal posterior, ya sea por organogénesis o embriogénesis, se puede transformar con una construcción genética de la presente divulgación y regenerar una planta entera a partir de él. El tejido particular elegido variará dependiendo de los sistemas de propagación clonal disponibles y mejor adecuados para la especie particular en transformación. Los ejemplos de dianas tisulares incluyen discos foliares, polen, embriones, cotiledones, hipocotilos, megagametofitos, tejido de callo, tejido meristemático existente (por ejemplo, meristema apical, brotes axilares y meristemas de la raíz) y tejido de meristema inducido (por ejemplo, meristema de cotiledón e hipocotilo). El polinucleótido se puede introducir de forma transitoria o estable en una célula huésped y se puede mantener no integrado, por ejemplo, como un plásmido. Alternativamente, se puede integrar en el genoma del huésped. La célula vegetal transformada resultante, se puede usar luego para regenerar una planta transformada de manera conocida por los expertos en la materia.

La transferencia de genes extraños al genoma de una planta se denomina transformación. La transformación de especies vegetales es ahora una técnica bastante rutinaria. Ventajosamente, se puede usar cualquiera de los diversos métodos de transformación para introducir el gen de interés en una célula progenitora adecuada. Los métodos descritos para la transformación y regeneración de plantas a partir de tejidos vegetales o células vegetales pueden ser utilizados para transformación transitoria o estable. Los métodos de transformación incluyen el uso de liposomas, electroporación, sustancias químicas que aumentan la captación de ADN libre, inyección del ADN directamente en la planta, bombardeo de partículas con pistola, transformación empleando virus o polen y microproyección. Los métodos se pueden elegir entre el método de calcio/poli-etilenglicol para protoplastos (Krens, F.A. et al., (1982) *Nature* 296, 72-74; Negrutiu I et al. (1987) *Plant Mol Biol* 8: 363- 373); electroporación de protoplastos (Shillito R.D. et al. (1985) *Bio/Technol* 3, 1099-1 102); microinyección en material vegetal (Crossway A et al., (1986) *Mol. Gen Genet* 202: 179-185); bombardeo de partículas recubiertas de ADN o ARN (Klein TM et al., (1987) *Nature* 327: 70) infección con (no integrativa) virus y similares. Las plantas transgénicas, incluidas las plantas de cultivo transgénicas, se producen preferentemente a través de transformación mediada por *Agrobacterium*. Un medio de transformación ventajoso es la transformación en la planta. Con este fin, es posible, por ejemplo, permitir que las agrobacterias actúen sobre las semillas de la planta o inocular el meristema de la planta con agrobacterias. Se ha demostrado que es particularmente conveniente, de acuerdo con la divulgación, permitir que una suspensión de agrobacterias transformadas actúe sobre la planta intacta o al menos sobre los primordios de la flor. La planta se cultiva posteriormente hasta que se obtienen las semillas de la planta tratada (Clough and Bent, *Plant J.* (1998) 16, 735-743). Los métodos de transformación mediada por agrobacteria de arroz, incluyen métodos bien conocidos para la transformación del arroz, como los descritos en cualquiera de los siguientes: solicitud de patente europea EP1198985, Aldemita y Hodges (*Planta* 199: 612-617, 1996); Chan et al. (*Plant Mol Biol* 22 (3): 491 - 506, 1993), Hiei et al. (*Plant J* 6 (2): 271 - 282, 1994). En el caso de transformación de maíz, el método preferido es como se describe en Ishida et al. (*Nat. Biotechnol* 14(6): 745-50, 1996) o en Frame et al. (*Plant Physiol* 129(1): 13-22, 2002). Estos métodos se describen más detalladamente a modo de ejemplo en B. Jenes et al., *Techniques for Gene Transfer*, en: *Transgenic Plants*, Vol. 1, Engineering and Utilization, eds. S.D. Kung y R. Wu, Academic Press (1993) 128-143 y en Potrykus *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Molec. Biol.* 42 (1991) 205-225). Los ácidos nucleicos o la construcción que se van a expresar, se clonan preferentemente en un vector, que sea adecuado para transformar *Agrobacterium tumefaciens*, por ejemplo pBin19 (Bevan et al (1984) *Nucl. Acids Res.* 12-8711). La agrobacteria

transformada por un vector de ese tipo se puede usar después de manera conocida para la transformación de plantas, por ejemplo plantas usadas como modelo como *Arabidopsis* (*Arabidopsis thaliana* está comprendida por el alcance de la presente divulgación no considerada como una planta de cultivo), o plantas de cultivo como, a modo de ejemplo, plantas de tabaco, por ejemplo sumergiendo hojas magulladas u hojas cortadas en una solución agrobacteriana y luego cultivándolas en medios adecuados. La transformación de plantas mediante *Agrobacterium tumefaciens* es descrita por ejemplo, por Hofgen y Willmitzer en Nucl. Acid Res. (1988) 16, 9877 o es conocida por ejemplo, entre otros, a partir de F.F. White, Vectors for Gene Transfer in Higher Plants; en Transgenic Plants, Vol. 1, Engineering and Utilization, eds. S.D. Kung y R. Wu, Academic Press, 1993, pp. 15-38.

Además de la transformación de células somáticas, que después deben ser regeneradas en plantas intactas, también es posible transformar las células de los meristemas de las plantas y en particular aquellas células que se convierten en gametos. En este caso, los gametos transformados siguen el desarrollo natural de la planta, generando plantas transgénicas. Por lo tanto, por ejemplo, las semillas de *Arabidopsis* se tratan con agrobacterias y se obtienen semillas de las plantas en desarrollo de las cuales una cierta proporción es transformada y por lo tanto transgénica [Feldman, KA y Marks MD (1987). Mol Gen Genet 208:1 - 9; Feldmann K (1992). En: C Koncz, N-H Chua y J Shell, eds, Methods in Arabidopsis Research. World Scientific, Singapore, pp. 274-289]. Los métodos alternativos se basan en la eliminación repetida de las inflorescencias y la incubación del sitio de escisión en el centro de la roseta con agrobacterias transformadas, por lo cual se pueden obtener de igual manera semillas transformadas en un momento posterior (Chang (1994). Plant J. 5: 551 -558; Katavic (1994). Mol Gen Genet, 245: 363-370). Sin embargo, un método especialmente eficaz es el método de infiltración al vacío con sus modificaciones, como el método de "inmersión floral". En el caso de la infiltración al vacío de *Arabidopsis*, las plantas intactas a presión reducida se tratan con una suspensión agrobacteriana [Bechthold, N (1993). CR Acad Sci Paris Life Sci, 316: 1 194-1 199], mientras que en el caso del método de "inmersión floral" el tejido floral en desarrollo se incuba brevemente con una suspensión agrobacteriana tratada con surfactante [Clough, SJ y Bent AF (1998) The Plant J. 16, 735-743]. Se recoge una cierta proporción de semillas transgénicas en ambos casos, y estas semillas se pueden distinguir de las semillas no transgénicas cultivándolas en las condiciones selectivas descritas antes. Además, la transformación estable de los plástidos es ventajosa, porque los plástidos se heredan por vía materna, ya que la mayoría de los cultivos reducen o eliminan el riesgo de flujo de transgenes a través del polen. La transformación del genoma del cloroplasto se logra generalmente mediante un proceso que se ha mostrado esquemáticamente en Klaus et al., 2004 [Nature Biotechnology 22 (2), 225-229]. Brevemente, las secuencias a transformar se clonan junto con un gen marcador seleccionable entre secuencias flanqueantes homólogas al genoma del cloroplasto. Estas secuencias flanqueantes homólogas dirigen la integración específica del sitio en el plastoma. La transformación plastidial se ha descrito para muchas especies vegetales diferentes y se ofrece una descripción general en Bock (2001) Transgenic plastids in basic research and plant biotechnology. J Mol Biol. 21 de setiembre de 2001; 312 (3): 425-38 o Maliga, P (2003) Progress towards commercialization of plastid transformation technology. Trends Biotechnol. 21, 20-28. Más recientemente, se ha informado sobre nuevos avances biotecnológicos en forma de transformantes de plástidos exentos de marcadores, que se pueden producir mediante un gen marcador cointegrado transitorio (Klaus et al., 2004, Nature Biotechnology 22 (2), 225-229).

Las células vegetales modificadas genéticamente se pueden regenerar a través de todos los métodos con los que los técnicos con experiencia están familiarizados. Los métodos adecuados se pueden encontrar en las publicaciones mencionadas antes de S.D. Kung y R. Wu, Potrykus o Hofgen y Willmitzer.

Generalmente, después de la transformación, las células vegetales o los grupos de células se seleccionan por la presencia de uno o más marcadores que están codificados por genes expresables en plantas, transferidos conjuntamente con el gen de interés, después de lo cual el material transformado regenera una planta completa. Para seleccionar plantas transformadas, el material vegetal obtenido en la transformación se somete, por regla general, a condiciones selectivas para que las plantas transformadas se puedan distinguir de las plantas sin transformar. Por ejemplo, las semillas obtenidas de la manera descrita antes, se pueden plantar y, después de un período inicial de cultivo, someter a una selección adecuada mediante aspersión. Otra posibilidad consiste en cultivar las semillas, si es apropiado después de la esterilización, en placas de agar usando un agente de selección adecuado para que sólo las semillas transformadas puedan desarrollarse en plantas. Alternativamente, las plantas transformadas se criban en busca de la presencia de un marcador seleccionable tal como los descritos antes. Luego de la transferencia del ADN y la regeneración, las plantas transformadas putativamente también se pueden evaluar, por ejemplo, utilizando el análisis Southern, para detectar la presencia del gen de interés, el número de copias y/o la organización genómica. Alternativa o adicionalmente, los niveles de expresión del ADN recién introducido se pueden monitorear usando análisis Northern y/o Western, y ambas técnicas son bien conocidas por los técnicos con experiencia.

Las plantas transformadas generadas se pueden propagar por distintos medios, como la propagación clonal o las técnicas clásicas de reproducción. Por ejemplo, se puede autofecundar una planta transformada de primera generación (o T1) y seleccionar los transformantes homocigotos de segunda generación (o T2), y las plantas T2 se pueden propagar después a través de técnicas clásicas de reproducción. Los organismos transformados generados pueden adoptar una variedad de formas. Por ejemplo, pueden ser quimeras de células transformadas y células no transformadas; transformantes clonales (por ejemplo, todas las células transformadas para contener el cassette de expresión); injertos de tejidos transformados y no transformados (por ejemplo, en plantas, un rizoma transformado injertado en un vástago no transformado).

Los ejemplos no limitantes siguientes, describen métodos y medios de acuerdo con la divulgación. A menos que se indique lo contrario en los ejemplos, todas las técnicas se llevan a cabo de acuerdo con los protocolos estándar en el área. Los ejemplos siguientes se incluyen para ilustrar las realizaciones de la divulgación. Sin embargo, los técnicos con experiencia deben, a la luz de la presente divulgación, percibir que se pueden hacer muchos cambios en las realizaciones específicas que se dan a conocer y todavía obtener un resultado similar o parecido sin apartarse del concepto, el espíritu y el alcance de la divulgación. Más específicamente, resultará evidente que los agentes descritos en este documento pueden ser sustituidos por ciertos agentes que están relacionados tanto química como fisiológicamente, obteniéndose los mismos resultados o resultados similares. Todos estos sustitutos similares y modificaciones evidentes para los expertos en el tema se consideran dentro del espíritu, el alcance y el concepto de la divulgación tal como se define en las reivindicaciones adjuntas.

Por lo tanto, las Figuras, el Listado de Secuencias y la Parte experimental/los Ejemplos sólo se proporcionan para ilustrar aún más la divulgación y no se deben interpretar ni considerar como limitantes del alcance de la divulgación ni de las reivindicaciones adjuntas en modo alguno, a menos que se indique explícitamente lo contrario.

La divulgación anterior se describirá ahora más detalladamente por medio de los ejemplos no limitantes y las figuras, en los cuales las figuras muestran:

Figura 1: Unión de VHH, como extractos periplásmicos crudos que contienen VHH, a GlcCer fúngica de recubrimiento de *Pleurotus citrinopileatus*. Anti-GlcCer VHH se une a GlcCer fúngica, no se observa unión para VHH no relacionado.

Figura 2: Especificidad de unión de VHH 41D01. Unión de VHH 41D01 purificado a una concentración de 0.1 µg/ml a GlcCer fúngica de recubrimiento de *Fusarium oxysporum* o *Pleurotus citrinopileatus*, y GlcCer no fúngica de planta (soja), o mamífero (cerdo). Las barras representan valores promedio de OD 405 nm, las barras de error representan errores estándar de la media de n = 6. Anti-GlcCer VHH 41D01 se une específicamente a GlcCer y no a GlcCer de planta o mamífero.

Figura 3A: Especificidad de unión de VHH. Unión de VHH purificado a una concentración de 1 µg/ml a GlcCer fúngica de recubrimiento de *Fusarium oxysporum* o *Pleurotus citrinopileatus*. Diferentes anti-GlcCer VHH se unen específicamente a diferentes GlcCer fúngicas.

Figura 3B: Especificidad de unión de VHH. Unión de VHH purificado a una concentración de 1 µg/ml a GlcCer no fúngica de recubrimiento de planta (soja). Diferentes anti-GlcCer VHH no se unen a GlcCer de planta.

Figure 3C: Especificidad de unión de VHH. Unión de VHH purificado a una concentración de 1 µg/ml a GlcCer no fúngica de recubrimiento de mamífero (cerdo). Diferentes anti-GlcCer VHH no se unen a GlcCer de mamífero.

Figura 4: Medición en tiempo real de la interacción anticuerpo-antígeno entre VHH 41D01 y GlcCer fúngica. VHH 41D01 se une a GlcCer fúngica. Se observa una lenta disociación de GlcCer de VHH 41D01. VHH\_A no relacionado no se une a GlcCer fúngica.

Figura 5: Reactividad cruzada y especificidad de VHH 41D01 y VHH 56F11. Unión de VHH 41D01 purificado a una concentración de 0.1 µg/ml y VHH 56F11 a una concentración de 1 µg/ml a extractos lipídicos fúngicos de recubrimiento, GlcCer de *Pleurotus citrinopileatus*, y compuestos no relacionados: pectina de manzana, pectina cítrica o lectina de patata.

Las barras representan valores promedio de OD 405 nm, las barras de error representan errores estándar de la media de n = 2. Anti-GlcCer VHH 41D01 y VHH 56F11 se unen específicamente a cada uno de los extractos lipídicos fúngicos probados. Anti-GlcCer VHH 41D01 y VHH 56F11 no muestran unión a compuestos de recubrimiento no relacionados ni a pocillos no recubiertos.

Figura 6: Unión de VHH 41D01 en diferentes composiciones a GlcCer fúngica de *Fusarium oxysporum*. Se analizaron composiciones acuosas que contenían anti-GlcCer VHH 41D01 a una concentración de 0.1 µg/ml e inhibidores de la proteasa y/o surfactante no iónico y/o conservante, con respecto a la unión a GlcCer fúngica. VHH 41D01 específico para GlcCer se une a GlcCer fúngica en todas las composiciones probadas sin efectos adversos de ninguno de los aditivos.

Figura 7A: Puntuación visual del crecimiento fúngico. Se inocularon diluciones en serie de VHH (anti-GlcCer VHH 41D01, 56E05, 56F11 y 57A06 así como los VHH\_A VHH\_B no relacionados) con esporas de *Botrytis cinerea* (1 E + 05/ml) y se incubaron a temperatura ambiente. El efecto sobre el crecimiento fúngico de los anti-GlcCer VHH 41D01, 56E05, 56F11 y 57A06 y los VHH\_A o VHH\_B no relacionados se cuantificó basándose en un conjunto de estándares fotográficos. Las barras representan el % promedio de crecimiento, las barras de error representan los errores estándar de la media de al menos 3 repeticiones.

Figura 7B: Puntuación visual del crecimiento fúngico. Se inocularon diluciones en serie de VHH (los anti-GlcCer VHH 56C09, 56H07, 57C09, 57E07 y 57E11 así como los VHH\_A VHH\_B no relacionados) con esporas de *Botrytis cinerea* (1 E + 05/ml) y se incubaron a temperatura ambiente. El efecto sobre el crecimiento fúngico de los anti-GlcCer VHH 56C09, 56H07, 57C09, 57E07 y 57E11 y los VHH\_A o VHH\_B no relacionados se cuantificó basándose en un conjunto de estándares fotográficos. Las barras representan el % promedio de crecimiento, las barras de error representan los errores estándar de la media de al menos 3 repeticiones.

Figura 7C: Puntuación visual del crecimiento fúngico. Se inocularon diluciones en serie de VHH (los anti-

GlcCer VHH 54C08, 54C11, 56A05 y 56A09 así como los VHH\_A VHH\_B no relacionados) con esporas de *Botrytis cinerea* (1 E + 05/ml) y se incubaron a temperatura ambiente. El efecto sobre el crecimiento fúngico de los anti-GlcCer VHH 54C08, 54C11, 56A05 y 56A09 y los VHH\_A o VHH\_B no relacionados se cuantificó basándose en un conjunto de estándares fotográficos. Las barras representan el % promedio de crecimiento, las barras de error representan los errores estándar de la media de al menos 3 repeticiones.

Figura 8A: Puntuación visual del crecimiento fúngico de diferentes especies fúngicas. Se incubaron dos diluciones en serie de VHH (anti-GlcCer VHH o VHH no relacionado) con esporas (1 E + 05/ml) de *Alternaria brassicicola* a temperatura ambiente. El efecto sobre el crecimiento fúngico de VHH y los compuestos de control se basó en un conjunto de estándares fotográficos. Las barras representan el % promedio de crecimiento, las barras de error representan los errores estándar de la media de n = 2.

Figura 8B: Puntuación visual del crecimiento fúngico de diferentes especies fúngicas. Se incubaron dos diluciones en serie de VHH (anti-GlcCer VHH o VHH no relacionado) con esporas (1 E + 05/ml) de *Cercospora beticola* a temperatura ambiente. El efecto sobre el crecimiento fúngico de VHH y los compuestos de control se basó en un conjunto de estándares fotográficos. Las barras representan el % promedio de crecimiento, las barras de error representan los errores estándar de la media de n = 2.

Figura 8C: Puntuación visual del crecimiento fúngico de diferentes especies fúngicas. Se incubaron dos diluciones en serie de VHH (anti-GlcCer VHH o VHH no relacionado) con esporas (1 E + 05/ml) de *Fusarium culmorum* a temperatura ambiente. El efecto sobre el crecimiento fúngico de VHH y los compuestos de control se basó en un conjunto de estándares fotográficos. Las barras representan el % promedio de crecimiento, las barras de error representan los errores estándar de la media de n = 2.

Figura 8D: Puntuación visual del crecimiento fúngico de diferentes especies fúngicas. Se incubaron dos diluciones en serie de VHH (anti-GlcCer VHH o VHH no relacionado) con esporas (1 E + 05/ml) de *Verticillium dahliae* a temperatura ambiente. El efecto sobre el crecimiento fúngico de VHH y los compuestos de control, se basó en un conjunto de estándares fotográficos. Las barras representan el % promedio de crecimiento, las barras de error representan los errores estándar de la media de n = 2.

Figura 9: Ensayo antifúngico *in vitro* utilizando *Penicillium expansum*. Se inocularon dos diluciones en serie de VHH con esporas de *P. expansum* (1 E + 03/ml) a temperatura ambiente. Se analizaron anti-GlcCer VHH 41D01, VHH\_A no relacionado, BSA, hlgG no relacionada, anticuerpo monoclonal de ratón anti-GlcCer y agua. Se midió la luminiscencia (RLU) luego de 24 h de incubación. Se expresó el % de RLU de las esporas tratadas versus las esporas sin tratar. Los valores representan el % promedio de RLU, las barras de error representan los errores estándar de la media de n = 4.

Figura 10: Se midió la gravedad de la enfermedad en hojas de tomate tratadas preventivamente con anti-GlcCer VHH 41D01, VHH\_A no relacionado, o agua, e inoculadas con esporas de *Botrytis cinerea* (6E + 06 esporas/ml). Las barras representan el diámetro promedio de la lesión (mm) puntuado a los 6 días post infección, las barras de error representan los errores estándar de la media de n = 5.

Figura 11: Se midió la gravedad de la enfermedad en hojas de tomate tratadas curativamente con anti-GlcCer VHH 41D01, VHH\_A no relacionado o BSA, e inoculadas con esporas de *Botrytis cinerea* (6 E + 06 esporas/ml). Las barras representan el diámetro promedio de la lesión (mm) puntuado a los 5 días post infección, las barras de error representan los errores estándar de la media de n = 5.

Figura 12: Se midió la gravedad de la enfermedad en peras tratadas preventivamente con anti-GlcCer VHH 41D01, VHH\_A no relacionado o agua, e inoculadas con esporas de *Botrytis cinerea* (1E + 04 esporas/ml). Las barras representan el diámetro promedio de la lesión (mm) puntuado a los 4 días post infección, las barras de error representan los errores estándar de la media de n = 5.

## Ejemplos y materiales y métodos

### Ejemplo 1

Aislamiento de secuencias de ácido nucleico que codifican péptidos con afinidad por la glucosilceramida fúngica

**Inmunizaciones de animales:** se generaron VHH de llamas inmunizadas con glucosilceramida fúngica (GlcCer). Las llamas se inmunizaron siguiendo protocolos estándar con 6 inyecciones de refuerzo de glucosilceramida (GlcCer) de *Pleurotus citrinopileatus* (Nacalai Tesque) purificada por cromatografía de capa delgada (TLC) (99%). Se disolvió GlcCer purificada en una mezcla de agua:metanol:cloroformo y se sembró en una placa de sílice sobre vidrio para TLC. Se raspo la sílice con la GlcCer adsorbida de la placa y se suspendió en tampón de fosfato. La suspensión se sometió a ultrasonido, se mezcló con adyuvante incompleto de Freund y se usó para inyecciones subcutáneas. Los VHH también se generaron de llamas inmunizadas con esporas fúngicas germinadas nativas o esporas de oomicetos. Las llamas se inmunizaron siguiendo protocolos estándar con 6 inyecciones de refuerzo de esporas germinadas nativas de *Botrytis cinerea* o *Phytophthora infestans* mediante inyecciones subcutáneas. Todas las llamas permanecieron saludables a lo largo del proceso de inmunización y se les extrajeron muestras de sangre antes y después de cada vacunación.

**Construcción de la biblioteca:** una biblioteca fágica de anticuerpos es una población de fagos en la que cada fago expone un único dominio de anticuerpo de unión al antígeno sobre su superficie, como una parte de una proteína pIII

química. Se prepararon células mononucleares de sangre periférica a partir de muestras de sangre de las llamas inmunizadas empleando Ficoll-Hypaque según las instrucciones del fabricante. Se extrajo el ARN total de esas células y se usó como material de partida para una RT-PCR con el fin de amplificar los VHH que codifican fragmentos de genes. Estos fragmentos se clonaron en el vector fagémido pASF20. pASF20 es un vector de expresión derivado de pUC119 que contiene el promotor lacZ, una secuencia líder sintética, un sitio de clonación múltiple, una secuencia que codifica la proteína pIII del colifago, un gen de resistencia a la ampicilina, y un origen de fago M13 para la producción de una sola cadena. En el marco con la secuencia codificante de VHH, el vector codifica un marcador peptídico (tag) C-terminal (His) 6 y un marcador peptídico c-myc. Se prepararon los fagos siguiendo métodos estándar (Phage Display of Peptides and Proteins: A Laboratory Manual; Brian K. Kay, Jill Winter, Dr. John McCafferty). Se obtuvieron 4 bibliotecas, cada una con una diversidad clonal igual o superior a  $1 \times 10^8$  y se produjeron fagos que aseguran la presentación de la diversidad de anticuerpos.

Selecciones de VHH por presentación en fagos: se aislaron fagos que expresaban dominios de anticuerpos de unión al antígeno, específicos para un antígeno particular, seleccionando el fago en la biblioteca para la unión al antígeno. Las GlcCer fúngicas se inmovilizaron en placas de múltiples pocillos de poliestireno Maxisorp disolviendo la GlcCer fúngica en una mezcla de agua:metanol:cloroformo o metanol a diferentes concentraciones, agregando la GlcCer fúngica disuelta a los pocillos de la placa de múltiples pocillos y dejándola secar durante la noche a temperatura ambiente. Los pocillos recubiertos con GlcCer fúngica se lavaron y se bloquearon con gelatina de pescado al 1% en la preparación de las selecciones de VHH mediante presentación en fagos. Se permitió que los fagos de la biblioteca de VHH se unieran durante dos horas a temperatura ambiente a pocillos de una placa de 96 pocillos recubierta con GlcCer fúngica. Para seleccionar específicamente por unión del fago a GlcCer fúngica, los fagos se preincubaron con gelatina de pescado al 1% y/o BSA y/o leche descremada y/o GlcCer de plantas y/o GlcCer de mamíferos. Los fagos no unidos se eliminaron mediante un lavado exhaustivo y los fagos unidos se eluyeron mediante elución competitiva con RsAFP2 (Osborn et al., 1995) o con tripsina. Se realizaron de una a tres rondas consecutivas de selección, y se compararon los títulos de fagos de los pocillos recubiertos con GlcCer fúngica con los títulos de fagos de pocillos en blanco y esfingolípidos patógenos no diana, respecto al enriquecimiento y la especificidad, respectivamente. Se observaron enriquecimientos en la primera ronda y las subsiguientes de selección, y las poblaciones de fagos después de una o más rondas de selección ya mostraban especificidad por la GlcCer fúngica en ELISA (no se muestra). Se tomaron clones individuales de las selecciones de la primera, segunda y/o tercera ronda para una caracterización posterior mediante análisis de secuencia y ensayos de unión primaria.

Caracterización de los VHH mediante secuenciación y ensayos de unión: la diversidad de la población de anticuerpos o dominios de anticuerpos obtenida se puede determinar rápidamente utilizando una secuenciación de ADN de alto rendimiento y permite una cuantificación precisa de la diversidad clonal. La unión del anticuerpo o dominio de anticuerpo y la especificidad de unión a un antígeno se pueden analizar en ensayos para la unión a ese antígeno y comparar con controles relacionados y no relacionados. Cada anticuerpo o dominio de anticuerpo se puede unir a un antígeno específico y posiblemente a variantes antigénicas de ese antígeno. La especificidad es el grado en el cual la unión de un anticuerpo o dominio de anticuerpo discrimina entre variantes antigénicas. De los clones de VHH individuales que se tomaron de las selecciones de primera, segunda o tercera rondas de presentación en fagos, el ADN se amplificó en una PCR de colonia y los productos de la PCR se secuenciaron mediante secuenciación de Sanger. Después del análisis de secuencias y en base a la diversidad de secuencias, se seleccionaron los VHH para una caracterización posterior. Para verificar la especificidad de la especie, se usaron en los ensayos de unión GlcCer fúngicas y no fúngicas de especies diana y no diana. Los ensayos de unión primaria para identificar qué clones se seleccionaron funcionalmente de las bibliotecas se realizaron con GlcCer purificada por TLC (99%) o fracciones de glicoesfingolípidos (GSL) enriquecidas con GlcCer de *A. brassicicola*, *B. cinerea*, *C. beticola*, *F. culmorum*, *F. graminearum*, *F. oxysporum*, *P. citrinopileatus*, *P. digitatum*, *P. expansum* o *V. dahlia* (preparados como se describe en Ternes et al., 2011 JBC 286: 11401-14). Las GlcCer de soja y GlcCer porcina se adquirieron a Avanti Polar Lipids. Los VHH se produjeron en placas de pocillos profundos de 96 pocillos y el perfil de unión de los extractos periplásmicos diluidos crudos que contenían VHH se evaluó en formato ELISA. De la misma manera, se realizaron ensayos de unión con VHH purificado.

De los ensayos de unión primaria, 130 extractos periplásmicos que contenían VHH se unieron a GlcCer fúngica con valores de OD 405 nm superiores que los de VHH\_A no relacionado, VHH\_B no relacionado y el blanco. Los valores de OD 405 nm que demuestran la unión específica de varios de estos VHH que se unen a GlcCer fúngica se muestran en la Figura 1. El análisis de secuencias reveló 84 secuencias únicas del conjunto identificado de anti-GlcCer VHH.

Caracterización adicional mediante cribados de unión diferencial: para una caracterización adicional, se produjeron VHH pertenecientes al panel principal mencionado antes en *E. coli*, en matraces de cultivo siguiendo procedimientos estándar. Los VHH marcados con hexahistidina se purificaron del extracto periplásmico con resina de afinidad metálica TALON (Clontech), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Los VHH purificados se concentraron y se dializaron contra PBS. Los VHH también se purificaron utilizando sistemas de purificación automatizados que utilizan una combinación de IMAC de níquel inmovilizado y columnas de desalinización. Los VHH del panel principal que obtuvieron una puntuación positiva en los ensayos de unión primaria, se analizaron posteriormente respecto a

su especificidad hacia GlcCer o fracciones de la pared celular de diferentes fitopatógenos fúngicos.

Como se demuestra en las Figuras 2, 3A, 3B y 3C, el VHH específico de GlcCer mostró una unión específica a la GlcCer fúngica (*Pleurotus citrinopileatus*, *Fusarium oxysporum*) y no a otra GlcCer no fúngica ni a un pocillo blanco sin recubrimiento.

Resonancia de plasmones superficiales: la unión de VHH a GlcCer fúngica se caracterizó por resonancia de plasmones superficiales en un instrumento Biacore 3000. Se unieron covalentemente Anti-GlcCer VHH 41D01 o VHH\_A no relacionado a la superficie de chips del sensor CM5 a través del acoplamiento de amina hasta que se alcanzó un aumento de 1000 unidades de respuesta. Los grupos reactivos restantes se inactivaron. Se inyectó una serie de concentraciones GlcCer de *Fusarium oxysporum* en solución, preparadas de acuerdo con Salio et al., 2013 PNAS 110, E4753-E4761 durante 2 minutos a una velocidad de flujo de 30  $\mu\text{l}/\text{min}$  para permitir la unión a VHH unido al chip. El tampón de la corrida sin GlcCer se inyectó sobre el chip a la misma velocidad de flujo para permitir la disociación espontánea de la GlcCer fúngica unida durante 10 minutos. Se calculó un valor de constante cinética de disociación (Koff) a partir de los sensogramas obtenidos para las diferentes concentraciones de GlcCer fúngica con un modelo de ajuste global de la disociación de Langmuir 1:1.

Para anti-GlcCer VHH se calculó una constante de disociación lenta de  $4.86 \times 10^{-4}/\text{s}$ . Como se muestra en la figura 4, un VHH no relacionado no se unió a la GlcCer fúngica.

Se inyectaron secuencialmente GlcCer de planta (soja), de mamífero (cerdo) y fúngica (*Fusarium oxysporum*) en solución, durante 2 minutos a una velocidad de flujo de 30  $\mu\text{l}/\text{min}$  para permitir la unión al VHH unido al chip (anti-GlcCer VHH 41D01 o VHH\_A no relacionado). El tampón de la corrida sin GlcCer se inyectó sobre el chip entre cada inyección a la misma velocidad de flujo para permitir la disociación espontánea de la GlcCer unida.

No se observó unión de GlcCer de plantas o mamíferos a anti-GlcCer VHH 41D01 ni a VHH\_A no relacionado. Se observó unión específica de GlcCer fúngica para anti-GlcCer VHH 41D01 y no para VHH\_A no relacionado.

Unión diferencial a diferentes extractos lipídicos fúngicos: la unión de las composiciones de anti-GlcCer VHH a diferentes extractos de lípidos fúngicos se comparó con compuestos no relacionados.

Se prepararon extractos fúngicos de acuerdo con Rodrigues et al. 2000 Infection and Immunity 68 (12): 7049-60. En resumen, se recogió micelio de *Botrytis cinerea* B05-10, *Botrytis cinerea* MUCL401, *Botrytis cinerea* R16, *Botrytis cinerea* (aislado de pera propio), *Fusarium culmorum* MUCL555, *Fusarium graminearum* MUCL53451, *Penicillium digitatum* MUCL43-410, *Penicillium digitatum* (aislado de limón propio) o *Penicillium expansum* CBS 146.45 de hongos multiplicados en placas de agar y se extrajeron los lípidos con cloroformo/metanol 2:1 (vol/vol) y 1:2 (vol/vol); el extracto de lípidos crudo se particionó de acuerdo con Folch et al. 1957. Journal of Biological Chemistry 226 (1): 497-509. Se recuperaron los extractos lipídicos fúngicos de la fase inferior de Folch. Se evaluó la unión de anti-GlcCer VHH 41D01 (0.1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) y anti-GlcCer VHH 56F11 (1  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) para pocillos recubiertos con los lípidos fúngicos extraídos (cada uno en una dilución 1/20), GlcCer de *Fusarium oxysporum purificada*, GlcCer de *Pleurotus citrinopileatus purificada* y compuestos no relacionados: pectina de manzana (pectina de manzana altamente esterificada 70-75%, Sigma, N° de cat.: 76282), pectina cítrica (pectina cítrica poco esterificada 20-34%, Sigma, N° de cat. P9311) o lectina de patata (*Solanum Tuberosum Lectin*, Vector labs, N° de cat.: L-1160) o un pocillo no recubierto como blanco. Se midió la unión después de la incubación consecutiva con anticuerpos de detección conjugados a enzimas, agregando sustrato y midiendo la absorbancia a 405 nm. Las barras representan valores promedio de OD 405 nm, las barras de error representan errores estándar de la media de  $n = 2$ .

Como se muestra en la figura 5, anti-GlcCer VHH 41D01 y 56F11 reconocen específicamente todos los extractos lipídicos fúngicos probados. Anti-GlcCer VHH 41D01 y VHH 56F11 no se unieron a compuestos de recubrimiento no relacionados ni a pocillos no recubiertos. La unión de las composiciones anti-GlcCer VHH a una amplia gama de extractos de lípidos fúngicos potencia una variedad de aplicaciones para las composiciones de anti-GlcCer VHH como se describe en el presente documento contra diferentes hongos.

Unión de anti-GlcCer VHH a GlcCer fúngica en diferentes composiciones acuosas:

Se prepararon composiciones acuosas que contenían anti-GlcCer VHH 41D01 y/o inhibidores de la proteasa y/o surfactantes no iónicos y/o conservantes. Composición A1 (inhibidores de la proteasa: 0.06  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de aprotinina (Roche, N° de cat.: 10236624001), 0.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de leupeptina (Roche, N° de cat.: 11017101001), 24  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de clorhidrato de fluoruro de 4-bencenosulfonilo (Sigma, A8456), EDTA 1 mM (Carl-Roth, N° de cat. 8040.1) y surfactante no iónico: 0.0001% Polisorbato 20 (Tween<sup>20</sup>, Sigma, N° de cat. P2287); Composición A2 (inhibidores de la proteasa: 1  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de aprotinina, 2.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de leupeptina, 100  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de clorhidrato de fluoruro de 4-bencenosulfonilo, EDTA 1 mM y surfactante no iónico: 0.05% de Polisorbato 20); Composición A3 (inhibidores de la proteasa: 2  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de aprotinina, 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de leupeptina, 240  $\mu\text{g}/\text{ml}$  de clorhidrato de fluoruro de 4-bencenosulfonilo, EDTA 1 mM y surfactante no iónico: 5% de Polisorbato 20), Composición B1 (surfactante no iónico: 0.0001% de

Polisorbato 20), Composición B2 (surfactante no iónico: 0.05% de Polisorbato 20), Composición B3 (surfactante no iónico: 5% de Polisorbato 20) y Composición C1 (conservante: benzoato de sodio al 0.05% (Sigma, N° de cat. B3420)). La unión de anti-GlcCer VHH (conc. 0.1 µg/ml) a GlcCer fúngica en diferentes composiciones acuosas se analizó en ELISA con recubrimiento de GlcCer de *F. oxysporum* y se comparó con pocillos en blanco no recubiertos. La unión se midió después de una incubación consecutiva con anticuerpos de detección conjugados a enzimas, agregando sustrato y midiendo la absorbancia a 405 nm.

En la figura 6, se compararon los valores de VHH 41D01 específico para GlcCer en diferentes composiciones con 41D01 en solución sin otros aditivos. En la figura 6 se muestra que VHH 41D01 específico para GlcCer fue capaz de unirse específicamente a GlcCer fúngica en toda las composiciones probadas.

## Ejemplo 2

Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de composiciones de anti-GlcCer VHH

Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de VHH: se analizó la actividad antifúngica de anti-GlcCer-VHH utilizando ensayos antifúngicos en medios líquidos y en placas de agar como los descritos en Thevissen et al., 2011, Bioorg. Med. Chem. Lett. 21 (12): 3686-92; François et al., 2009, J. Biol. Chem. 284(47): 32680-5; Aerts et al., 2009, FEBS Lett. 583(15): 25143-6. Se determinó la concentración inhibitoria mínima (MIC) para el VHH sobre el crecimiento *in vitro* de *Botrytis cinerea* y *Phytophthora infestans*.

También se puede utilizar un ensayo *in vitro* para evaluar el crecimiento fúngico en medios líquidos en placas de 96 pocillos, para cribar directamente diferentes VHH que se generan contra el material fúngico integral y se seleccionan contra antígenos moleculares, diferentes de GlcCer, por su actividad antifúngica. Este cribado se realiza en extractos periplásmicos crudos que contienen VHH de células de *E. coli* en las que se producen VHH, o con VHH purificado.

Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de composiciones de anti-GlcCer VHH contra diferentes hongos fitopatógenos: se evaluó la actividad antifúngica de composiciones de anti-GlcCer VHH *in vitro* contra una serie de hongos fitopatógenos y se comparó con la actividad antifúngica de VHH no relacionados.

Se prepararon dos diluciones seriadas de las composiciones acuosas de VHH en agua (partiendo de 1.5 mg de VHH/ml) en placas de microtitulación de 96 pocillos. A 20 µl de estas diluciones y a 20 µl de agua como control, se le agregaron 80 µl de suspensión de esporas fúngicas (1 E + 05 esporas/ml en caldo de dextrosa de patata (PDB) de media concentración). Las cepa fúngicas de la prueba fueron *Alternaria brassicicola* MUCL20297, *Botrytis cinerea* R16, *Cercospora beticola* (aislado de remolacha azucarera propio), *Fusarium culmorum* MUCL555 y *Verticillium dahliae* MUCL6963. Las placas se incubaron durante 72 horas a temperatura ambiente en la oscuridad y la actividad antifúngica de los compuestos de prueba se puntuó microscópicamente y se cuantificó basándose en estándares fotográficos, donde una puntuación de 0 o 100 se refiere a sin crecimiento o crecimiento máximo, respectivamente. Todas las pruebas se realizaron al menos por duplicado.

Los resultados de los ensayos de actividad antifúngica, que se muestran en las figuras 7A, 7B, 7C, 8A, 8B, 8C y 8D indicaron una clara diferencia entre el patrón de inhibición del crecimiento, expresado como el % del crecimiento fúngico en función de la concentración de VHH (µg/ml), del anti-GlcCer VHH (incluidas 41D01, 56F11, 56E05 o 57A06) y de los VHH (VHH\_A y VHH\_B) no relacionados. La diferencia fue clara independientemente de la especie del hongo de prueba. En general, a una concentración de prueba de 100 µg/ml, todos los anti-GlcCer VHH no permitieron más de 20% de crecimiento fúngico, mientras que a 100 µg/ml el VHH no relacionado, no mostró actividad antifúngica o muy débil (80% o más de crecimiento fúngico). De todos los diferentes anti-GlcCer VHH probados, 41D01 mostró la actividad antifúngica más prominente para varias cepas de prueba, incluso a concentraciones de prueba menores de 50 µg/ml el crecimiento fúngico fue menor de 20%.

Los resultados muestran la potencia antifúngica de anti-GlcCer VHH en comparación con el VHH no relacionado. Además, los resultados revelan un amplio espectro de actividad antifúngica de las composiciones de anti-GlcCer VHH hacia al menos 5 fitopatógenos fúngicos diferentes e indican que el espectro de actividad antifúngica del anti-GlcCer VHH seleccionado se puede ampliar a otros fitopatógenos fúngicos.

Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de composiciones de anti-GlcCer VHH contra *Penicillium expansum* utilizando luminiscencia: se evaluó la actividad antifúngica *in vitro* de composiciones de anti-GlcCer VHH 41D01 contra el hongo fitopatógeno *Penicillium expansum* CBS 146.45 y se comparó con la actividad antifúngica de VHH\_A no relacionado, un anticuerpo monoclonal de ratón anti-GlcCer (MAb anti-GlcCer de ratón), inmunoglobulina G (IlgG) humana o seroalbúmina bovina (BSA) como controles, usando luminiscencia como lectura.

Se prepararon dos diluciones seriadas de todas las composiciones de prueba en agua (partiendo de 1.5 mg/ml) en placas de microtitulación de 96 pocillos. A 20 µl de estas diluciones y a 20 µl de agua como control, se le agregaron 80 µl de suspensión de esporas fúngicas (1 E + 03 esporas/ml en (PDB) diluido 4 veces). Las placas de prueba se

incubaron durante 24 h a temperatura ambiente en la oscuridad y se determinó la viabilidad de las esporas 24 h post inoculación (hpi) usando luminiscencia de acuerdo con las indicaciones del proveedor (BacTiter Glo; Promega). Se determinaron las unidades de luz relativas (RLU) (luminómetro Tecan) y se expresaron los valores de RLU medidos para las esporas tratadas con anti-GlcCer VHH 41D01, VHH\_A no relacionado, hlgG, MAb anti-GlcCer de ratón o BSA versus los valores de RLU determinados para las esporas fúngicas sin tratar como % de RLU. Se incluyeron 4 repeticiones en la prueba (n = 4).

Como se muestra en la figura 9, el % de RLU determinado luego del tratamiento con la composición de anti-GlcCer VHH 41D01 difirió claramente del % de RLU registrado luego de los tratamientos con VHH\_A no relacionado, MAb anti-GlcCer de ratón, hlgG o BSA. Particularmente, el efecto del tratamiento con 41D01 sobre las esporas fúngicas, expresado como % de RLU versus el control sin tratar fue menor de 25% a concentraciones de 300 µg/ml o 150 µg/ml de 41D01, y menor de 50% a concentraciones de 75 µg/ml, 37.5 µg/ml y 19 µg/ml. Por el contrario, el efecto de todas las otras composiciones de prueba, expresado como % de RLU versus el control sin tratar fue generalmente de 100% para todas las concentraciones probadas.

Estos resultados muestran que la composición anti-GlcCer VHH 41D01 específica, tuvo un efecto antifúngico claro sobre el hongo fitopatógeno *Penicillium expansum* hasta 19 µg/ml y aventaja a VHH\_A no relacionado, MAb anti-GlcCer de ratón, hlgG o BSA. De por sí, las composiciones de anti-GlcCer VHH se pueden usar para proteger plantas contra hongos fitopatógenos.

#### Ejemplo 3

##### Formulación de VHH en formulaciones agrícolas

Se produjeron anti-GlcCer VHH como proteínas recombinantes en una cepa de producción de *E. coli* adecuada. Los anti-GlcCer VHH se purificaron de los medios y/o el periplasma, y/o las células de *E. coli* se destruyeron y se lisaron al fin del proceso de fermentación. Los anti-GlcCer VHH también se pueden producir como proteínas recombinantes en *Pichia pastoris* o *Saccharomyces cerevisiae* y secretar en los medios de fermentación. Después los anticuerpos anti-GlcCer VHH se purifican de los componentes del medio y los constituyentes de la célula por diafiltración.

La solución proteínica resultante se diluye en un tampón adecuado, como solución salina tamponada con fosfato, para ajustar el pH a aproximadamente 7. Opcionalmente se agrega un agente biocida, como azida de sodio, en una concentración de aproximadamente 0.0001% a 0.1% y un detergente no iónico, como Tween20, en una concentración de aproximadamente 0.0001% a 5%, a la solución proteínica tamponada.

Alternativamente, la solución proteínica resultante se mezcla con un humectante y un dispersante adecuados en presencia de un material de relleno habitual antes de ser secado por aspersión en gránulos humectables.

#### Ejemplo 4

##### Evaluación de la actividad antifúngica de VHH sobre cultivos

La eficacia del VHH con potente actividad antifúngica *in vitro* contra *B. cinerea* y *P. infestans* se evaluó además en la planta mediante bioensayos de enfermedad en (i) hojas desprendidas de plantas de tomate y patata y (ii) plantas de tomate y patata cultivadas en invernadero.

Los ensayos de enfermedad en hojas desprendidas se realizan empleando el modelo patosistema *B. cinerea* en tomate y *P. infestans* en patata. Las plantas de tomate y patatas cultivadas en invernadero se asperjan en una cabina de aspersión con una solución acuosa de VHH en un volumen equivalente a 300 litros por ha y con una dosis de aplicación inferior a 50 g de VHH por hectárea. Después de asperjar, la aspersión depositada se deja secar sobre las plantas y a continuación se desprenden las hojas compuestas de las plantas y se colocan en agua en placas de agar. Las hojas en las placas de agua-agar se inoculan por goteo en diferentes momentos con una suspensión de esporas de *B. cinerea* o *P. infestans* ( $5 \times 10^5$  esporas/ml). El desarrollo de la enfermedad se controla visualmente y/o digitalmente midiendo el diámetro de la lesión y con software de análisis de imágenes, respectivamente (Assess, Lamari 2002, St. Paul, Minnesota, USA: APS Press).

#### Ejemplo 5

Evaluación en la planta de la actividad antifúngica de composiciones de anti-GlcCer VHH para proteger los cultivos contra infecciones fúngicas

Eficacia de composiciones de anti-GlcCer VHH en hojas de tomate inoculadas con *Botrytis cinerea*: tratamiento preventivo: se evaluó el efecto de un tratamiento preventivo con composiciones de anti-GlcCer VHH sobre la gravedad de la enfermedad de hojas de tomate inoculadas con *Botrytis cinerea* B05-10 y se comparó con los efectos

de un VHH no relacionado, agua o un fungicida químico comercial formulado.

Las hojas desprendidas de plantas de tomate cultivadas en invernadero se trataron con 10 µl de una composición acuosa de VHH (anti-GlcCer o un VHH no relacionado a una concentración de 5 mg/ml), y, agua y Scala (1 mg pirimetanil/ml, según recomienda el fabricante) como controles. Después del secado de las composiciones aplicadas, se aplicaron gotas de 10 µl de una suspensión de esporas de *Botrytis cinerea* (6 E+ 06 esporas/ml en PDB diluido 4 veces) sobre las superficies tratadas. Las hojas tratadas e inoculadas se incubaron a una humedad relativamente elevada y a temperatura ambiente en pequeños propagadores de plantas. La gravedad de la enfermedad se puntuó midiendo el diámetro bidireccional 6 días post inoculación (dpi).

Como se muestra en la figura 10, el tratamiento preventivo con la composición de anti-GlcCer VHH resultó en un diámetro promedio de la lesión de 6 mm (+/- 1.4 mm), mientras que el tratamiento con un VHH no relacionado o agua mostró un diámetro promedio de la lesión de 13.4 mm (+/- 4 mm) o 15 mm (+/- 4 mm), respectivamente. En el tratamiento de control con un fungicida químico comercial formulado, las hojas de tomate fueron eficazmente protegidas contra la infección con *Botrytis cinerea* (sin una lesión visible).

Como también se muestra la figura 10, el tratamiento preventivo de las hojas de tomate con la aplicación de la composición anti-GlcCer VHH resultó claramente en una reducción de 2 veces en la gravedad de la enfermedad en comparación con el tratamiento con un VHH no relacionado o agua. Por lo tanto, anti-GlcCer VHH específico, aún aplicado como una composición acuosa sin formular a una concentración de 5 mg/ml, mostró la potencia de anti-GlcCer VHH específico para ser utilizado como compuesto antifúngico para proteger cultivos contra patógenos fúngicos en aplicaciones agrícolas.

Eficacia de composiciones de anti-GlcCer VHH en hojas de tomate inoculadas con *Botrytis cinerea*: tratamiento curativo: se evaluó el efecto de un tratamiento curativo con composiciones de anti-GlcCer VHH sobre la gravedad de la enfermedad de hojas de tomate inoculadas con *Botrytis cinerea* B05-10 y se comparó con los efectos de un VHH no relacionado, seroalbúmina bovina (BSA) o un fungicida químico comercial formulado.

Se inocularon hojas desprendidas de plantas de tomate cultivadas en invernadero con gotas de 10 µl de una suspensión de esporas de *Botrytis cinerea* (6 E + 06 esporas/ml) en caldo de dextrosa de patata diluido 4 veces). Una hora después de la inoculación, las manchas inoculadas sobre las hojas se trataron con 10 µl de una composición acuosa de VHH (anti-GlcCer y un VHH no relacionado a una concentración de 1.6 mg/ml), y, BSA a una concentración de 1.6 mg/ml y Scala (1 mg pirimetanil/ml, según recomienda el fabricante) como controles. Las hojas tratadas e inoculadas se incubaron a una humedad relativamente elevada y a temperatura ambiente en pequeños propagadores de plantas. La gravedad de la enfermedad se puntuó midiendo el diámetro bidireccional a 5 dpi.

Como se muestra en la figura 11, el tratamiento curativo con la composición de anti-GlcCer VHH resultó en un diámetro promedio de la lesión de 3 mm (+/- 0.8 mm), mientras que el tratamiento con un VHH no relacionado o BSA mostró un diámetro promedio de la lesión de 15 mm (+/- 3.5 mm) o 13 mm (+/- 3.5 mm), respectivamente. En el tratamiento de control con un fungicida químico comercial formulado, las hojas de tomate fueron eficazmente protegidas contra la infección con *Botrytis cinerea* (sin una lesión visible).

Como también se muestra la figura 11, el tratamiento curativo de las hojas de tomate con la aplicación de la composición anti-GlcCer VHH resultó claramente en una reducción de 4 veces en la gravedad de la enfermedad en comparación con el tratamiento con un VHH no relacionado o BSA. Por lo tanto, anti-GlcCer VHH específico, aún aplicado como una composición acuosa sin formular a una concentración de 1.6 mg/ml, mostró la potencia de anti-GlcCer VHH específico para ser utilizado como compuesto antifúngico para proteger cultivos contra patógenos fúngicos en aplicaciones agrícolas.

Eficacia de composiciones de anti-GlcCer VHH sobre peras inoculadas con *Botrytis cinerea*: tratamiento preventivo: se evaluó el efecto de un tratamiento preventivo con composiciones de anti-GlcCer VHH sobre la gravedad de la enfermedad de peras inoculadas con *Botrytis cinerea* B05-10 (aislado de peras propio) y se comparó con los efectos de un VHH no relacionado, agua o un fungicida químico comercial formulado.

Peras (de la variedad Williams) de agricultura biológica, que se había confirmado previamente que no habían sido tratadas, se trataron con 10 µl de una composición acuosa de VHH (que contenían anti-GlcCer VHH o un VHH no relacionado a una concentración de 5 mg/ml), y, agua y Scala (1 mg pirimetanil/ml, según recomienda el fabricante) como controles. Después del secado de las soluciones aplicadas, se aplicaron gotas de 10 µl de una suspensión de esporas de *Botrytis cinerea* (1 E+ 04 esporas/ml en agua) sobre las superficies tratadas. Las peras tratadas e inoculadas se incubaron a una humedad relativamente elevada y a temperatura ambiente en pequeños recipientes. La gravedad de la enfermedad se puntuó midiendo el diámetro bidireccional a 4 dpi.

Como se muestra en la figura 12, el tratamiento preventivo con la composición de anti-GlcCer VHH resultó en un diámetro promedio de la lesión de 3 mm (+/- 2 mm), mientras que el tratamiento con un VHH no relacionado o agua mostró un diámetro promedio de la lesión de 9.6 mm (+/- 0.8 mm) o 6.6 mm (+/- 1.6 mm), respectivamente. En el tratamiento preventivo de control con un fungicida químico comercial formulado, las peras fueron eficazmente protegidas contra la infección con *Botrytis cinerea* (sin una lesión visible).

Como también se muestra la figura 12, el tratamiento preventivo de las peras con la aplicación de la composición anti-GlcCer VHH resultó claramente en una reducción de al menos 2 veces en la gravedad de la enfermedad en comparación con el tratamiento con un VHH no relacionado o agua. Por lo tanto, anti-GlcCer VHH específico, aún aplicado como una composición acuosa sin formular a una concentración de 5 mg/ml, mostró la potencia de anti-GlcCer VHH específico para ser utilizado como compuesto antifúngico para proteger cultivos contra patógenos

fúngicos en aplicaciones agrícolas.

Composición de anti-GlcCer VHH para proteger semillas de plantas contra infecciones fúngicas: el efecto de una composición de anti-GlcCer VHH en la protección de semillas de plantas contra hongos patógenos se puede evaluar de la manera siguiente. Semillas de plantas con la superficie estéril, tratadas con anti-GlcCer VHH, un VHH no relacionado, agua o un fungicida químico comercial formulado se colocan sobre una placa de agar de dextrosa de patata que contiene  $1 \text{ E} + 03$  esporas/ml del hongo de prueba *Fusarium graminearum*. Las placas de prueba se incuban a temperatura ambiente y se pueden medir las zonas de inhibición del crecimiento fúngico (mm) que rodean a la semillas permitiendo comparar el efecto de los diferentes tratamientos.

Composición de anti-GlcCer VHH para proteger raíces de plantas contra infecciones fúngicas en cultivo hidropónico: el efecto de una composición de anti-GlcCer VHH en la protección de raíces de plantas contra hongos patógenos y sobre la salud de la planta en general se puede evaluar de la manera siguiente. Se cultivan plantas de tomate con sus raíces en una solución de nutrientes minerales o en un medio inerte como perlite complementado o empapado, respectivamente con una composición de anti-GlcCer VHH, un VHH no relacionado, agua o un fungicida químico comercial formulado. Se puede usar *Verticillium dahliae* ( $1 \text{ E} + 03$  esporas/ml) para inocular las raíces de las plantas y el efecto de los diferentes tratamientos se puntúa en la cosecha midiendo la gravedad de la enfermedad en las plantas basándose en una escala arbitraria de clases de enfermedades: 0 = sin síntomas, 1 = ligero amarilleo de la hoja, retraso del crecimiento o marchitamiento, 2 = moderado amarilleo de la hoja, retraso del crecimiento o marchitamiento, 3 = intenso amarilleo de la hoja, retraso del crecimiento o marchitamiento y 4 = muerte foliar (como describen Fakhro et al., 2010)

Composición de anti-GlcCer VHH para proteger flores de plantas contra infecciones fúngicas: el efecto de una composición de anti-GlcCer VHH en la protección de flores de plantas contra hongos patógenos se puede evaluar usando cereales o *Arabidopsis thaliana* y *Fusarium culmorum* o *Fusarium graminearum* como hongos de prueba (como describen Urban et al., 2002). En resumen, se inoculan por aspersión plantas en floración con  $1 \text{ E} + 05$  esporas/ml de *Fusarium culmorum* o *Fusarium graminearum* seguido de un tratamiento con una composición de anti-GlcCer VHH, un VHH no relacionado, agua o un fungicida químico comercial formulado (tratamiento curativo) o viceversa (tratamiento preventivo). Se incuban las plantas y la puntuación de la enfermedad se realiza según describen Urban et al. (2002) y permite cuantificar el efecto de los diferentes tratamientos.

#### LISTADO DE SECUENCIAS

<110> AgroSavfe N.V.

<120> Agrochemical compositions comprising polypeptides

<130> AGSF-006-PCT1

<150> US 61/817,170

<151> 2013-04-29

<160> 335

<170> PatentIn versión 3.5

<210> 1

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> VHH secuencia 40F07

<400> 1

ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Thr Thr Phe Ser Ser Tyr  
 20 25 30

Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Leu  
 35 40 45

Ala Ser Ile Glu Gly Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

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

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

Ala Ala Arg Thr Trp Ser Ile Phe Arg Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

Gln Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 2  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> VHH secuencia 41D01

<400> 2

5

10

ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Ser Arg Tyr  
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Leu Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Thr Ser Ile Thr Arg Gly Gly Thr Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Ile Trp Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr  
100 105 110

Val Ser Ser  
115

<210> 3  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 41D06

10

<400> 3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ile Phe Gly Ile Asn  
20 25 30

Ala Met Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

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

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Asn Tyr Thr Val Tyr Leu



ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ile Phe Ser Ile Asn  
20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Asp Pro Gly Lys Gln Arg Glu Met Val  
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Ser Gly Ala Asn Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Ala Val Gly Arg Arg Trp Tyr Gly Gly Tyr Val Glu Leu Trp Gly Gln  
100 105 110

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 6  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 42C11

10

<400> 6

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ser Thr Tyr  
20 25 30

Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Ile Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Ser Ser Gly Lys Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Ile Thr Lys Asn Thr Met Tyr Leu



ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ser Thr Tyr  
20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Ile Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Ser Ser Gly Lys Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile Thr Lys Asn Thr Met Tyr Leu  
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gly  
85 90 95

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

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 9  
<211> 120  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 50D07

10

<400> 9

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Asn Ile Val Asn Ile Arg  
20 25 30

Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Val Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Ser Asp Gln Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Thr Thr Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu



ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Asp  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Arg Phe Gly Ser Tyr  
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Val Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Gly Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Arg  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Ser Leu  
65 70 75 80

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

Ala Lys Tyr Gly Arg Trp Thr Tyr Thr Gly Arg Pro Glu Tyr Asp Ser  
100 105 110

Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 12

<211> 116

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> VHH secuencia 51C06

<400> 12

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ser Ser Asp  
20 25 30

Thr Met Gly Trp Tyr Arg Arg Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu

5

10



ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ala Ile Thr Phe Ser Leu  
20 25 30

Gly Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu  
35 40 45

Val Ala Ser Ile Ser Thr Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

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

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

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

Val Ser Ser  
115

<210> 15  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 52B01

10

<400> 15

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe Ser Ile Asn  
20 25 30

Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Glu Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Val Thr Val Tyr Leu



ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Gly Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Val Ser Gly Thr Thr Phe Ser Ile Asn  
20 25 30

Thr Met Gly Trp His Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Ser Gly Gly Trp Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Arg  
85 90 95

Trp Gly Ala Ile Gly Asn Trp Tyr Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val  
100 105 110

Ser Ser

<210> 18

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> VHH secuencia 53F05

<400> 18

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Val Arg Ile Phe Gly Leu Asn  
20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

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

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Asn Asn Thr Val Tyr Leu

5

10

ES 2 703 192 T3

	65				70						75				80	
	Gln	Met	Asn	Asn	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	Asn
					85					90					95	
	Ala	Glu	Arg	Arg	Trp	Gly	Leu	Pro	Asn	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln
					100				105					110		
	Val	Thr	Val	Ser	Ser											
					115											
	<210>	19														
5	<211>	126														
	<212>	PRT														
	<213>	Secuencia artificial														
	<220>															
10	<223>	VHH secuencia 54A02														
	<400>	19														
	Gln	Val	Gln	Leu	Gln	Glu	Ser	Gly	Gly	Gly	Leu	Val	Glu	Ala	Gly	Gly
	1				5					10					15	
	Ser	Leu	Arg	Leu	Ser	Cys	Ala	Ala	Ser	Gly	Arg	Thr	Phe	Ser	Arg	Tyr
				20					25					30		
	Gly	Met	Gly	Trp	Phe	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Glu	Arg	Glu	Phe	Val
			35					40					45			
	Ala	Ala	Asn	Arg	Trp	Ser	Gly	Gly	Ser	Thr	Tyr	Tyr	Ala	Asp	Ser	Val
		50					55					60				
	Arg	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Asn	Thr	Val	Tyr
	65				70					75					80	
	Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Lys	Pro	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys
					85					90					95	
	Ala	Ala	Tyr	Ala	His	Ile	Thr	Ala	Trp	Gly	Met	Arg	Asn	Asp	Tyr	Glu
				100					105					110		
	Tyr	Asp	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Gln	Val	Thr	Val	Ser	Ser		
			115					120					125			
15	<210>	20														
	<211>	125														
	<212>	PRT														
	<213>	Secuencia artificial														
	<220>															
20	<223>	VHH secuencia 54B01														
	<400>	20														

ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Thr Gly Arg Thr Phe Ser Arg Tyr  
20 25 30

Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Asp Phe Val  
35 40 45

Ala Gly Ile Thr Trp Thr Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Ala Gly Asn Leu Leu Arg Leu Ala Gly Gln Leu Arg Arg Gly Tyr  
100 105 110

Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

<210> 21  
<211> 129  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 54C01

10

<400> 21

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Gly Ser Arg Tyr  
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val  
35 40 45

Ala Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Asp Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr



ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Ser Ser Ile Asn  
20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Ser Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Asn Leu  
65 70 75 80

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

Ala Gly Pro Trp Tyr Arg Arg Ser Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val Thr  
100 105 110

Val Ser Ser  
115

<210> 24  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 54C10

10

<400> 24

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Ala Ser Ile Phe Trp Val Asn  
20 25 30

Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Gln Ile Thr Arg Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys

ES 2 703 192 T3

50 55 60

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

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

Ala Asp Leu Ala Val Arg Gly Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 25  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 54C11

10

<400> 25

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Phe Phe Pro Val Asn  
20 25 30

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

Ala Asn Ile Thr Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

Gln Met Asn Thr Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn  
85 90 95

Val Arg Ile Gly Phe Gly Trp Thr Ala Lys Ala Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115

15

<210> 26  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20

<220>  
<223> VHH secuencia 54D03

<400> 26

ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Gly Ile Phe Gly Ile Asn  
 20 25 30

Ala Met Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
 35 40 45

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

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

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

Phe Val Arg Leu Trp Phe Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 27  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> VHH secuencia 54D06

10

<400> 27

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Ile Arg Ile Asn  
 20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
 35 40 45

Ala Thr Ile Thr Arg Gly Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys

ES 2 703 192 T3

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Phe Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Ala Arg Ser Trp Val Gly Pro Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

5 <210> 28  
<211> 120  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

10 <220>  
<223> VHH secuencia 54D10  
<400> 28

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Met Thr Tyr Ser Ile His  
20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val  
35 40 45

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

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

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

Val Lys Thr Arg Thr Trp Tyr Asn Gly Lys Tyr Asp Tyr Trp Gly Gln  
100 105 110

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115 120

15 <210> 29  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20 <220>  
<223> VHH secuencia 54E01  
<400> 29

ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asn  
20 25 30

Pro Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Tyr Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Val Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Gly Arg Ser Thr Leu Trp Arg Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 30  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 54E05

10

<400> 30

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ser Ile Asn  
20 25 30

Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Asn Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Phe Val Lys

ES 2 703 192 T3

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Asp Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn  
85 90 95

Ala His Arg Ser Trp Pro Arg Tyr Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 31  
<211> 118  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 54E10

10

<400> 31

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ser Phe Asn  
20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

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

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

Ala Glu Ser Arg Ile Phe Arg Arg Tyr Asp Tyr Trp Gly Pro Gly Thr  
100 105 110

Gln Val Thr Val Ser Ser  
115

15

<210> 32  
<211> 115  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20

<220>  
<223> VHH secuencia 54F01

<400> 32

ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Thr Ser Gly Ser Ile Phe Gly Leu Asn  
20 25 30

Leu Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Val Asp Arg Gly Trp Ser Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr  
100 105 110

Val Ser Ser  
115

<210> 33  
<211> 119  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 54F02

10

<400> 33

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Thr Ser Gly Ser Ile Arg Ser Ile Asn  
20 25 30

Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Glu Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Ser Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys

ES 2 703 192 T3

50 55 60

Asn Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Leu His Gln Arg Ala Trp Ala Arg Ser Tyr Val Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 34  
<211> 117  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 54G01

10

<400> 34

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ala Val Asn  
20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly His Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Ile Ile Ser Ser Asn Ser Thr Ser Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Phe Cys Tyr  
85 90 95

Ala Lys Arg Ser Trp Phe Ser Gln Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

15

<210> 35  
<211> 121  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20

<220>  
<223> VHH secuencia 54G08

<400> 35

ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ser Phe Asn  
20 25 30

Leu Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Ser Ser Ser Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Ala Gln Tyr Thr Ile Thr Pro Trp Gly Ile Lys Lys Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 36  
<211> 120  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 54G09

10

<400> 36

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Met Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Asn Ile Val Asn Ile Arg  
20 25 30

Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Val Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Ser Asp Gln Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys



ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Val Val Gln Ala Gly Asp  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Thr Phe Gly Gly Tyr  
20 25 30

Thr Val Ala Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val  
35 40 45

Ala Arg Ile Ser Trp Ser Gly Ile Met Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Ser Arg Ser Gln Ile Arg Ser Pro Trp Ser Ser Leu Asp Asp Tyr  
100 105 110

Asp Arg Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

<210> 39  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 55C05

10

<400> 39

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Ser Ile Ser Ser Met Lys  
20 25 30

Ala Met Gly Trp His Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Gln Ile Thr Arg Gly Asp Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys



ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Thr Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ser Met Phe Ser Ser Asn  
20 25 30

Ala Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Arg Ile Leu Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Gly Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Ala Val Arg Tyr Leu Val Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr  
100 105 110

Val Ser Ser  
115

<210> 42  
<211> 121  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 55E07

10

<400> 42

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Val Gly Asp  
1 5 10 15

Ser Leu Thr Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Arg Ser Leu Asp Ile Tyr  
20 25 30

Gly Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val  
35 40 45

Ala Arg Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys

ES 2 703 192 T3

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Leu Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Ala Gly Val Val Val Ala Thr Ser Pro Lys Phe Tyr Ala Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 43  
<211> 116  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 55E09

10

<400> 43

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Lys Arg Ile Phe Ser Thr Tyr  
20 25 30

Thr Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Phe Val  
35 40 45

Ala Ala Ile Ile Trp Ser Gly Gly Arg Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Arg Asn Thr Val His  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Tyr Thr Arg Arg Leu Gly Thr Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

15

<210> 44  
<211> 115  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

20

<220>  
<223> VHH secuencia 55E10

<400> 44

ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe Ser Ile Gln  
20 25 30

Thr Ile Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Arg Val  
35 40 45

Ala Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn  
85 90 95

Leu Arg Tyr Trp Phe Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr  
100 105 110

Val Ser Ser  
115

<210> 45

<211> 115

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> VHH secuencia 55F04

<400> 45

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Phe Ser Ile Asn  
20 25 30

Val Arg Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Thr Ile Thr Ser Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys

5

10

ES 2 703 192 T3

50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Ala Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Ala Val Arg Leu Phe Arg Gln Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr  
100 105 110

Val Ser Ser  
115

<210> 46  
<211> 125  
<212> PRT  
<223> VHH secuencia 55F04

5

<400> 46

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Arg Leu Asn  
20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Ala Ile Thr Pro Gly Gly Gly Asn Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Leu Asn Thr Ile Tyr  
65 70 75 80

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

Asn Ala Gly Gly Ser Ser Arg Trp Tyr Ser Ser Arg Tyr Tyr Pro Gly  
100 105 110

Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

10

<210> 47  
<211> 126  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

15

<220>  
<223> VHH secuencia 55F10

20

<400> 47

ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Thr Ser Gly Gly Thr Phe Ser Arg Tyr  
20 25 30

Ala Met Gly Trp Phe Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Thr Ile Arg Arg Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Thr  
50 55 60

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr  
65 70 75 80

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

Ala Ala Asp Ser Ser Ala Arg Ala Leu Val Gly Gly Pro Gly Asn Arg  
100 105 110

Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115 120 125

<210> 48

<211> 118

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> VHH secuencia 55G02

<400> 48

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Gly Ser Ile Asn  
20 25 30

Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Tyr Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

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

Gly Arg Phe Ala Ile Ser Arg Asp Asn Ala Gln Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Leu Lys Asn Ala Lys Asn Val Arg Pro Gly Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Gln Val Thr Val Ser Ser  
115

5

10

15

ES 2 703 192 T3

5 <210> 49  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> VHH secuencia 55G08

10 <400> 49

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Arg Ala Ser Gly Gly Ile Phe Gly Ile Asn  
 20 25 30

Ala Met Arg Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
 35 40 45

Ala Ser Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Val Glu Ser Val Lys  
 50 55 60

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

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

Phe Val Arg Phe Trp Phe Pro Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser  
 115

15 <210> 50  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> VHH secuencia 56A05

<400> 50

ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Met Ser Asn  
20 25 30

Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Ala Arg Arg Asn Val Phe Ile Ser Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 51  
<211> 114  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 56A06

10

<400> 51

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ser Ile Ser Val Tyr Gly  
20 25 30

Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala  
35 40 45

Arg Ile Thr Asn Ile Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln  
65 70 75 80

Met Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Leu  
85 90 95

Arg Arg Leu Gly Arg Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val  
100 105 110

15

Ser Ser

ES 2 703 192 T3

<210> 52  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> VHH secuencia 56A09

5

<400> 52

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

10

<210> 53  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

<220>  
 <223> VHH secuencia 56C09  
 <400> 53

ES 2 703 192 T3

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ser Ile Phe Ser Ile Leu  
20 25 30

Ser Met Ala Trp Tyr Arg Gln Thr Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Asn Ile Thr Ser Val Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile Ala Lys Lys Thr Leu Tyr Leu  
65 70 75 80

Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys Asn  
85 90 95

Thr Arg Met Pro Phe Leu Gly Asp Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 54  
<211> 111  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 54C10

10

<400> 54

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Ala Phe Ser Phe Ser Asn Arg  
20 25 30

Ala Val Ser Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ser Arg Glu Trp Val  
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Gly Ile Arg Ile Thr Thr Tyr Thr Asn Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Lys Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

Gln Met Asn Asp Leu Arg Pro Glu Asp Thr Gly Val Tyr Arg Cys Tyr  
85 90 95

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

15

<210> 55  
<211> 117  
<212> PRT

ES 2 703 192 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> VHH secuencia 56D06

5

<400> 55

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Thr Val Phe Phe Ser Ile  
20 25 30

Ser Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu  
35 40 45

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

Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Gly Lys Lys Thr Ile Trp  
65 70 75 80

Leu Gln Met Asn Asn Leu Gln Pro Glu Asp Thr Ala Ile Tyr Tyr Cys  
85 90 95

Arg Leu Thr Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Leu Trp Gly Gln Gly Thr Gln  
100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
115

10

<210> 56

<211> 114

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> VHH secuencia 56D07

<400> 56

20

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

ES 2 703 192 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Ser Met Lys  
 20 25 30

Val Met Gly Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Leu Arg Glu Leu Val  
 35 40 45

Ala Val Ile Thr Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Ala Glu Ser Val Lys  
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Ser Leu  
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Gln Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr  
 85 90 95

Tyr Lys Thr Ile Arg Pro Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val  
 100 105 110

Ser Ser

<210> 57  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> VHH secuencia 56D10

<400> 57

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Arg Ile Thr  
 20 25 30

Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
 35 40 45

Ala Ser Ser Ser Ser Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ser Ser Val Lys  
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Arg Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn  
 85 90 95

Ala Arg Lys Phe Ile Thr Thr Pro Trp Ser Thr Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110

Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 58  
 <211> 116  
 <212> PRT

ES 2 703 192 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> VHH secuencia 56E04

5

<400> 58

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Asp  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Pro Ser Gly Ser Ile Phe Asn His Lys  
20 25 30

Ala Thr Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Ser Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Lys Ile Thr Thr Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Ala Glu Arg Tyr Phe Ala Thr Thr Leu Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

10

<210> 59

<211> 119

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> VHH secuencia 56E05

<400> 59

20

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

ES 2 703 192 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Ser Asn Asn  
 20 25 30

Ala Gly Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gln Arg Glu Leu Val  
 35 40 45

Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

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

Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Asn  
 85 90 95

Ala Gln Arg Arg Val Ile Leu Gly Pro Arg Asn Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 60  
 <211> 121  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> VHH secuencia 56E08

10

<400> 60

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Asn Ile Phe Arg Ile Asn  
 20 25 30

Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Asn Gln Arg Glu Leu Val  
 35 40 45

Ala Thr Ile Thr Ser Ala Asn Ile Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Asn Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Thr  
 85 90 95

Ala Gln Ala Lys Lys Trp Arg Ile Gly Pro Trp Ser Asp Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

15

<210> 61  
 <211> 119  
 <212> PRT

ES 2 703 192 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> VHH secuencia 56F07

5

<400> 61

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Arg Ile Phe Ser Ile Asn  
20 25 30

Asp Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Ile Ile Thr Asn Asp Asp Ser Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Ala Asp Ile Asn Thr Ala Ile Trp Arg Arg Lys Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115

10

<210> 62

<211> 121

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> VHH secuencia 56F11

<400> 62

20

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ser Gly Gly  
1 5 10 15

ES 2 703 192 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val His Ser Lys Thr Thr Phe Thr Arg Asn  
 20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Leu Gly Lys Glu Arg Glu Leu Val  
 35 40 45

Ala Thr Ile Thr Ser Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Met Asp Ser Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
 65 70 75 80

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

Val Asn Thr Arg Arg Ile Phe Gly Gly Thr Val Arg Glu Tyr Trp Gly  
 100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

<210> 63  
 <211> 115  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5

<220>  
 <223> VHH secuencia 56G07

10

<400> 63

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ser Arg Ile Phe Ile His  
 20 25 30

Asp Met Gly Trp His Arg Gln Ala Pro Gly Glu Pro Arg Glu Leu Val  
 35 40 45

Ala Thr Ile Thr Pro Phe Gly Arg Arg Asn Tyr Ser Glu Tyr Val Lys  
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Ile Ala Arg Asn Thr Met Ser Leu  
 65 70 75 80

Gln Met Ser Asn Leu Lys Ala Glu Asp Thr Gly Met Tyr Tyr Cys Asn  
 85 90 95

Val Arg Val Asn Gly Val Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr  
 100 105 110

Val Ser Ser  
 115

15

<210> 64  
 <211> 119  
 <212> PRT

ES 2 703 192 T3

<213> Secuencia artificial

<220>

<223> VHH secuencia 56G08

5

<400> 64

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ile Ser Gly Ile Thr Phe Arg Arg Pro  
20 25 30

Phe Gly Ile Ser Arg Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu  
35 40 45

Arg Glu Leu Val Ala Thr Leu Ser Arg Ala Gly Thr Ser Arg Tyr Val  
50 55 60

Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asp Ala Lys Asn  
65 70 75 80

Thr Leu Tyr Leu Gln Met Val Ser Leu Asn Pro Glu Asp Thr Ala Val  
85 90 95

Tyr Tyr Cys Tyr Ile Ala Gln Leu Gly Thr Asp Tyr Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115

10

<210> 65

<211> 117

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

15

<220>

<223> VHH secuencia 56G10

<400> 65

20

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

ES 2 703 192 T3

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ile Thr Leu Arg Met Tyr  
 20 25 30

Gln Val Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
 35 40 45

Ala Glu Ile Ser Ser Arg Gly Thr Thr Met Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Gly Ala Lys Asn Ile Val Tyr Leu  
 65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Glu Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn  
 85 90 95

Ala Arg Ala Phe Ala Phe Gly Arg Asn Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln  
 100 105 110

Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 66  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> VHH secuencia 56H04

5

<400> 66

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Ala Gly Gly  
 1 5 10 15

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

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ser Ser Gly Lys Gln Arg Ala Leu Val  
 35 40 45

Ala Arg Ile Ser Thr Val Gly Thr Ala His Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

Gly Arg Phe Thr Val Ser Lys Asp Asn Ala Gly Asn Thr Leu Tyr Leu  
 65 70 75 80

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

Ala Gln Ala Gly Arg Leu Tyr Leu Arg Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110

10

Gln Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 67  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15

ES 2 703 192 T3

<220>

<223> VHH secuencia 56H05

<400> 67

5

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Glu  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ala Ala Ser Thr Ser Ile Thr Thr  
20 25 30

Phe Asn Thr Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu  
35 40 45

Leu Val Ala Gln Ile Asn Asn Arg Asp Asn Thr Glu Tyr Ala Asp Ser  
50 55 60

Val Lys Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Gly Asn Ala Lys Asn Thr Ser  
65 70 75 80

Asn Leu Gln Met Asn Asp Leu Lys Ser Glu Asp Thr Gly Ile Tyr Tyr  
85 90 95

Cys Asn Ala Lys Arg Trp Ser Trp Ser Thr Gly Phe Trp Gly Gln Gly  
100 105 110

Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 68

<211> 114

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

10

<220>

<223> VHH secuencia 56H07

15

<400> 68

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Leu Thr Phe Ala Leu Gly

ES 2 703 192 T3

20 25 30

Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Thr Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
50 55 60

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile Ile Lys Asn Ile Leu Tyr Leu Gln  
65 70 75 80

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Ser Cys Asn Ala  
85 90 95

Arg Leu Trp Trp Ser Asn Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val  
100 105 110

Ser Ser

<210> 69  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> VHH secuencia 56H08

<400> 69

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Thr Ala Ser Gly Arg Thr Ser Ser Val Asn  
20 25 30

Pro Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Val Ile Ser Ser Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Val Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Leu Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Ala Asn Arg Arg Trp Ser Trp Gly Ser Glu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Gln Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 70  
 <211> 119  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 703 192 T3

<220>  
 <223> VHH secuencia 57A06

5

<400> 70  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ile Thr Phe Thr Asn Asn  
 20 25 30  
 Ala Gly Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Gln Gln Arg Glu Leu Val  
 35 40 45  
 Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys  
 50 55 60  
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ile Thr Lys Asn Thr Leu Ser Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Ser Ala Val Tyr Tyr Cys Asn  
 85 90 95  
 Ala Gln Arg Arg Val Ile Leu Gly Pro Arg Asn Tyr Trp Gly Gln Gly  
 100 105 110  
 Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
 115

<210> 71  
 <211> 116  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> VHH secuencia 57B01

15

<400> 71  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Glu Ala Pro Val Ser Thr Phe Asn Ile Asn

ES 2 703 192 T3

20 25 30

Ala Met Ala Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Ser Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Ile Cys Tyr  
85 90 95

Val Asn Arg His Trp Gly Trp Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val  
100 105 110

Thr Val Ser Ser  
115

<210> 72  
<211> 122  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 57B07

10

<400> 72

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
1 5 10 15

Thr Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ser Phe Arg Ser Ile Asn  
20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Thr Val Asp Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

Gln Met Ser Ser Leu Thr Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Tyr  
85 90 95

Ala Gly Ile Tyr Lys Trp Pro Trp Ser Val Asp Ala Arg Asp Tyr Trp  
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115 120

15

<210> 73  
<211> 117

ES 2 703 192 T3

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> VHH secuencia 57B11

<400> 73  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ser Ile Ser Met Asn  
 20 25 30  
 Ser Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Glu Arg Glu Arg Val  
 35 40 45  
 Ala Leu Ile Arg Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60  
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Met Asn Asn Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Gln  
 85 90 95  
 Ala Arg Arg Thr Trp Leu Ser Ser Glu Ser Trp Gly Gln Gly Thr Gln  
 100 105 110  
 Val Thr Val Ser Ser  
 115

10 <210> 74  
 <211> 122  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> VHH secuencia 57C07

<400> 74  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ser Thr Phe Gly Ile Asn

20

ES 2 703 192 T3

20 25 30

Thr Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Glu Lys Gln Arg Glu Leu Val  
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Arg Gly Gly Met Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Ala Gly Ile Arg Ser Arg Trp Tyr Gly Gly Pro Ile Thr Thr Tyr Trp  
100 105 110

Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115 120

<210> 75  
<211> 121  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

5

<220>  
<223> VHH secuencia 57C09

10

<400> 75

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Thr Gly Ser Ile Asn  
20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Gly Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val  
35 40 45

Ala Ser Ile Ser Ser Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
50 55 60

Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
65 70 75 80

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

Ala Lys Lys Ser Arg Trp Ser Trp Ser Ile Val His Asp Tyr Trp Gly  
100 105 110

Gln Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
115 120

15

<210> 76  
<211> 118

ES 2 703 192 T3

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> VHH secuencia 57D02

<400> 76  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln Thr Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Thr Leu Ser Cys Thr Thr Ser Gly Ser Ile Phe Gly Arg Ser  
 20 25 30  
 Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val  
 35 40 45  
 Ala Thr Ile Thr Arg Arg Ser Arg Thr Asn Tyr Ala Glu Phe Val Lys  
 50 55 60  
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Ser Ala Lys Asn Leu Val Thr Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Asn Val Tyr Tyr Cys Asn  
 85 90 95  
 Ala Arg Trp Gly Ala Gly Gly Ile Phe Ser Thr Trp Gly Gln Gly Thr  
 100 105 110  
 Gln Val Thr Val Ser Ser  
 115

10 <210> 77  
 <211> 120  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> VHH secuencia 57D09

<400> 77  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Glu  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Met Ser Ile Asp Ala

20



ES 2 703 192 T3

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> VHH secuencia 57E07

<400> 79  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Ser Ile Phe Gly Ile Asn  
 20 25 30  
 Asp Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Asp Leu Val  
 35 40 45  
 Ala Asp Ile Thr Arg Ser Gly Ser Thr His Tyr Val Asp Ser Val Lys  
 50 55 60  
 Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Asn Thr Val Tyr Leu  
 65 70 75 80  
 Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn  
 85 90 95  
 Ala Asp Ser Gly Ser His Trp Trp Asn Arg Arg Asp Tyr Trp Gly Gln  
 100 105 110  
 Gly Thr Gln Val Thr Val Ser Ser  
 115 120

10 <210> 80  
 <211> 118  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> VHH secuencia 57E11

<400> 80  
 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly  
 1 5 10 15  
 Ser Leu Lys Leu Ser Cys Ala Ala Ser Gly Phe Thr Phe Ser Ile Asn

20



ES 2 703 192 T3

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

5 <220>  
 <223> VHH secuencia 57G07

<400> 82

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ser Thr Ser Arg Ile Asn  
 20 25 30

Ala Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Lys Arg Glu Ser Val  
 35 40 45

Ala Thr Ile Arg Arg Gly Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 50 55 60

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

Gln Leu Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn  
 85 90 95

Ala His Ser Trp Leu Asp Tyr Asp Tyr Trp Gly Arg Gly Thr Gln Val  
 100 105 110

Thr Val Ser Ser  
 115

10 <210> 83  
 <211> 114  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

15 <220>  
 <223> VHH secuencia 57G08

<400> 83

20 Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
 1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Ser Arg Arg Arg Ile Asn Gly Ile Thr

ES 2 703 192 T3

20 25 30

Met Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg Glu Leu Val Ala  
35 40 45

Thr Ile Asp Ile His Asn Ser Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
50 55 60

Arg Phe Ile Ile Ser Arg Asp Asn Gly Lys Ser Met Leu Tyr Leu Gln  
65 70 75 80

Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Asn Arg  
85 90 95

Ile Pro Thr Phe Gly Arg Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Gln Val Thr Val  
100 105 110

Ser Ser

<210> 84  
<211> 118  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> VHH secuencia 57H08

<400> 84

Gln Val Gln Leu Gln Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Ala Gly Gly  
1 5 10 15

Ser Leu Arg Leu Ser Cys Val Ala Ser Gly Ser Thr Phe Tyr Thr Phe  
20 25 30

Ser Thr Lys Asn Val Gly Trp Tyr Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gln Arg  
35 40 45

Glu Leu Val Ala Gln Gln Arg Tyr Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp  
50 55 60

Ser Leu Gln Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Arg Thr  
65 70 75 80

Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Lys Pro Glu Asp Thr Ala Val Tyr  
85 90 95

Ile Cys Asn Val Asn Arg Gly Phe Ile Ser Tyr Trp Gly Gln Gly Thr  
100 105 110

Gln Val Thr Val Ser Ser  
115

<210> 85  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 40F07  
 5 <400> 85  
   **Ser Tyr Thr Met Gly**  
   1                           5  
 <210> 86  
 10 <211> 5  
   <212> PRT  
   <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 15 <223> CDR1 de VHH secuencia 41D01  
   <400> 86  
   **Arg Tyr Gly Met Gly**  
   1                           5  
 20 <210> 87  
   <211> 5  
   <212> PRT  
   <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
   <223> CDR1 de VHH secuencia 41D06  
   <400> 87  
   **Ile Asn Ala Met Arg**  
   1                           5  
 30 <210> 88  
   <211> 5  
   <212> PRT  
   <213> Secuencia artificial  
 35 <220>  
   <223> CDR1 de VHH secuencia 41G10  
   <400> 88  
   **Ile Asn Ala Met Gly**  
   1                           5  
 40 <210> 89  
   <211> 5  
   <212> PRT  
   <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
   <223> CDR1 de VHH secuencia 41H05  
   <400> 89  
   **Ile Asn Ala Met Gly**  
   1                           5  
 50 <210> 90  
   <211> 5  
   <212> PRT  
   <213> Secuencia artificial  
 55 <210> 90  
   <211> 5  
   <212> PRT  
   <213> Secuencia artificial  
 60 <210> 90  
   <211> 5  
   <212> PRT  
   <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 42C11  
 5 <400> 90  
 Thr Tyr Val Met Gly  
 1 5  
 <210> 91  
 10 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 15 <223> CDR1 de VHH secuencia 42C12  
 <400> 91  
 Ile Ser Ser Leu Gly  
 1 5  
 20 <210> 92  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 50D03  
 <400> 92  
 30 Thr Tyr Ala Met Gly  
 1 5  
 <210> 93  
 <211> 5  
 35 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 40 <223> CDR1 de VHH secuencia 50D07  
 <400> 93  
 Ile Arg Asp Met Gly  
 1 5  
 45 <210> 94  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 50E02  
 <400> 94  
 Ile Asn Ala Met Gly  
 55 1 5  
 <210> 95  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 60 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 51B08  
 5 <400> 95  
 Ser Tyr Ala Met Gly  
 1 5  
 <210> 1  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH sequence 51C06  
 15 <400> 96  
 Ser Asp Thr Met Gly  
 1 5  
 <210> 97  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> CDR1 de VHH sequence 51C08  
 <400> 97  
 Ile Lys Thr Met Gly  
 1 5  
 <210> 98  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 30 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 52A01  
 <400> 98  
 Leu Gly Thr Met Gly  
 1 5  
 <210> 99  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 35 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 52B01  
 <400> 99  
 Ile Asn Val Met Gly  
 1 5  
 <210> 100  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 51C06  
 <400> 96  
 Ser Asp Thr Met Gly  
 1 5  
 <210> 97  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> CDR1 de VHH sequence 51C08  
 <400> 97  
 Ile Lys Thr Met Gly  
 1 5  
 <210> 98  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 52A01  
 <400> 98  
 Leu Gly Thr Met Gly  
 1 5  
 <210> 99  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 55 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 52B01  
 <400> 99  
 Ile Asn Val Met Gly  
 1 5  
 <210> 100  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 60 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 51B08  
 <400> 95  
 Ser Tyr Ala Met Gly  
 1 5  
 <210> 1  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

ES 2 703 192 T3

<220>  
<223> CDR1 de VHH secuencia 52G05

5  
<400> 100  
Ile Ser Ala Met Gly  
1 5

10  
<210> 101  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

15  
<220>  
<223> CDR1 de VHH secuencia 53A01

<400> 101  
Ile Asn Thr Met Gly  
1 5

20  
<210> 102  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

25  
<220>  
<223> CDR1 de VHH secuencia 53F05

<400> 102  
Leu Asn Ala Met Gly  
1 5

30  
<210> 103  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

35  
<220>  
<223> CDR1 de VHH secuencia 54A02

40  
<400> 103  
Arg Tyr Gly Met Gly  
1 5

45  
<210> 104  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

50  
<220>  
<223> CDR1 de VHH secuencia 54B01

<400> 104  
Arg Tyr Thr Met Gly  
1 5

55  
<210> 105  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

60

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 54C01  
  
 <400> 105  
 Arg Tyr Ala Met Gly  
 5           1                           5  
  
 <210> 106  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 10       <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 54C04  
  
 15       <400> 106  
  
 Ile Asn Ala Met Gly  
 1                                   5  
  
 <210> 107  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 20       <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 54C08  
  
 25       <400> 107  
  
 Ile Asn Ala Met Gly  
 1                                   5  
  
 <210> 108  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 30       <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 54C10  
  
 35       <400> 108  
  
 Val Asn Asp Met Gly  
 1                                   5  
  
 <210> 109  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 40       <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 54C11  
  
 45       <400> 109  
  
 Val Asn Asp Met Ala  
 1                                   5  
  
 <210> 110  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 50       <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 55  
 60

<223> CDR1 de VHH secuencia 54D03

<400> 110

5       Ile Asn Ala Met Arg  
          1                    5

<210> 111  
<211> 5  
<212> PRT  
10       <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> CDR1 de VHH secuencia 54D06

15       <400> 111

          Ile Asn Ala Met Gly  
          1                    5

20       <210> 112  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
25       <223> CDR1 de VHH secuencia 54D10

<400> 112

          Ile His Ala Met Gly  
          1                    5

30       <210> 113  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

35       <220>  
<223> CDR1 de VHH secuencia 54E01

<400> 113

40       Ile Asn Pro Met Gly  
          1                    5

45       <210> 114  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
50       <223> CDR1 de VHH secuencia 54E05

<400> 114

          Ile Asn Thr Met Gly  
          1                    5

55       <210> 115  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

60       <220>

<223> CDR1 de VHH secuencia 54E10

<400> 115

5        Phe Asn Ala Met Gly  
         1                    5

<210> 116  
<211> 5  
<212> PRT  
10       <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> CDR1 de VHH secuencia 54F01

15       <400> 116

         Leu Asn Leu Met Gly  
         1                    5

20       <210> 117  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
25       <223> CDR1 de VHH secuencia 54F02

<400> 117

         Ile Asn Thr Met Gly  
         1                    5

30       <210> 118  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

35       <220>  
<223> CDR1 de VHH secuencia 54G01

<400> 118

40       Val Asn Ala Met Gly  
         1                    5

45       <210> 119  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
50       <223> CDR1 de VHH secuencia 54G08

<400> 119

         Phe Asn Leu Met Gly  
         1                    5

55       <210> 120  
<211> 5  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

60       <220>

<223> CDR1 de VHH secuencia 54G09  
 <400> 120  
 5       Ile Arg Asp Met Gly  
           1                    5  
 <210> 121  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 10       <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 55B02  
 15       <400> 121  
           Ile Asn Ser Met Asn  
           1                    5  
 20       <210> 122  
           <211> 5  
           <212> PRT  
           <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 25       <223> CDR1 de VHH secuencia 55B05  
           <400> 122  
           Gly Tyr Thr Val Ala  
           1                    5  
 30       <210> 123  
           <211> 5  
           <212> PRT  
           <213> Secuencia artificial  
 35       <220>  
           <223> CDR1 de VHH sequence 55C05  
           <400> 123  
 40       Met Lys Ala Met Gly  
           1                    5  
           <210> 124  
           <211> 5  
 45       <212> PRT  
           <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 50       <223> CDR1 de VHH secuencia 55D08  
           <400> 124  
           Ile Ser Ala Met Gly  
           1                    5  
 55       <210> 125  
           <211> 5  
           <212> PRT  
           <213> Secuencia artificial  
 60       <220>



<223> CDR1 de VHH secuencia 55F09  
 <400> 130

**Leu Asn Ala Met Gly**  
 1                      5

<210> 131  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 55F10

<400> 131

**Arg Tyr Ala Met Gly**  
 1                      5

<210> 132  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 55G02

<400> 132

**Ile Asn Val Met Gly**  
 1                      5

<210> 133  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 55G08

<400> 133

**Ile Asn Ala Met Arg**  
 1                      5

<210> 134  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56A05

<400> 134

**Ser Asn Thr Met Gly**  
 1                      5

<210> 135  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56A06  
  
 <400> 135  
 5  
 Val Tyr Gly Met Gly  
 1 5  
  
 <210> 136  
 <211> 5  
 10 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56A09  
 15  
 <400> 136  
  
 Leu Asn Ser Met Gly  
 1 5  
 20  
 <210> 137  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56C09  
  
 <400> 137  
  
 Ile Leu Ser Met Ala  
 30 1 5  
  
 <210> 138  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 35 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56C12  
 40  
 <400> 138  
  
 Asn Arg Ala Val Ser  
 1 5  
 45  
 <210> 139  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56D06  
 50  
 <400> 139  
  
 Ile Ser Ala Met Gly  
 55 1 5  
  
 <210> 140  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 60 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56D07  
  
 <400> 140  
 5  
**Met Lys Val Met Gly**  
 1 5  
  
 <210> 141  
 <211> 5  
 10 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56D10  
 15  
 <400> 141  
  
**Ile Thr Thr Met Gly**  
 1 5  
 20  
 <210> 142  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56E04  
  
 <400> 142  
  
**His Lys Ala Thr Gly**  
 30 1 5  
  
 <210> 143  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 35 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56E05  
 40  
 <400> 143  
  
**Asn Asn Ala Gly Gly**  
 1 5  
 45  
 <210> 144  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56E08  
 50  
 <400> 144  
  
**Ile Asn Asp Met Gly**  
 55 1 5  
  
 <210> 145  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 60 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56F07  
  
 <400> 145  
 5  
 Ile Asn Asp Met Ala  
 1 5  
  
 <210> 146  
 <211> 5  
 10 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56F11  
 15  
 <400> 146  
  
 Arg Asn Ala Met Gly  
 1 5  
 20 <210> 147  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56G07  
  
 <400> 147  
  
 Ile His Asp Met Gly  
 1 5  
 30 <210> 148  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 35 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56G08  
 40 <400> 148  
  
 Ile Ser Arg Met Gly  
 1 5  
 45 <210> 149  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56G10  
 50 <400> 149  
  
 Met Tyr Gln Val Gly  
 1 5  
 55 <210> 150  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 60 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56H04  
  
 <400> 150  
 5  
**Asn Lys Ala Met Gly**  
 1 5  
  
 <210> 151  
 <211> 5  
 10 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56H05  
 15  
 <400> 151  
  
**Phe Asn Thr Met Ala**  
 1 5  
 20 <210> 152  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56H07  
  
 <400> 152  
  
**Leu Gly Thr Met Gly**  
 30 1 5  
  
 <210> 153  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 35 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 56H08  
 40 <400> 153  
  
**Val Asn Pro Met Gly**  
 1 5  
 45 <210> 154  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57A06  
 50 <400> 154  
  
**Asn Asn Ala Gly Gly**  
 55 1 5  
  
 <210> 155  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 60 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57B01  
  
 <400> 155  
 5  
 Ile Asn Ala Met Ala  
 1 5  
  
 <210> 156  
 <211> 5  
 10 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57B07  
 15  
 <400> 156  
  
 Ile Asn Ala Met Gly  
 1 5  
 20 <210> 157  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57B11  
  
 <400> 157  
  
 Met Asn Ser Met Gly  
 1 5  
 30 <210> 158  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 35 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57C07  
 40 <400> 158  
  
 Ile Asn Thr Met Gly  
 1 5  
 45 <210> 159  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57C09  
  
 <400> 159  
  
 Ile Asn Ala Met Gly  
 1 5  
 55 <210> 160  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 60 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57D02  
  
 <400> 160  
 5  
**Arg Ser Asp Met Gly**  
 1                      5  
  
 <210> 161  
 <211> 5  
 10 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57D09  
 15  
 <400> 161  
  
**Ile Asp Ala Met Gly**  
 1                      5  
 20 <210> 162  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57D10  
  
 <400> 162  
  
**Ile Ser Thr Met Gly**  
 30 1                      5  
  
 <210> 163  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 35 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57E07  
 40 <400> 163  
  
**Ile Asn Asp Met Gly**  
 1                      5  
 45 <210> 164  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57E11  
 50 <400> 164  
  
**Ile Asn Thr Met Gly**  
 55 1                      5  
  
 <210> 165  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 60 <213> Secuencia artificial

ES 2 703 192 T3

<220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57G01  
  
 <400> 165  
 5  
 Ile Asn Ser Met Gly  
 1 5  
  
 <210> 166  
 <211> 5  
 10 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57G07  
 15  
 <400> 166  
  
 Ile Asn Ala Met Gly  
 1 5  
 20 <210> 167  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57G08  
  
 <400> 167  
  
 Gly Ile Thr Met Gly  
 30 1 5  
  
 <210> 168  
 <211> 5  
 <212> PRT  
 35 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 57H08  
 40 <400> 168  
  
 Thr Lys Asn Val Gly  
 1 5  
 45 <210> 169  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 40F07  
 50 <400> 169  
  
 Ser Ile Glu Gly Gly Gly Asn Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 55 1 5 10 15  
  
 <210> 170  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 60

ES 2 703 192 T3

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 41D01

<400> 170

5  
 Ser Ile Thr Arg Gly Gly Thr Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

<210> 171  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 41D06

15  
 <400> 171

Ser Ile Ser Ser Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ser Glu Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

20  
 <210> 172  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 41G10

<400> 172

30  
 Thr Ile Thr Ser Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

<210> 173  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 41H05

40  
 <400> 173

Thr Ile Thr Ser Gly Ala Asn Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

45  
 <210> 174  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 42C11

<400> 174

55  
 Thr Ile Thr Ser Ser Gly Lys Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

<210> 175  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60

ES 2 703 192 T3

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 42C12

<400> 175

5  
 Ser Ala Thr Ser Gly Gly Asp Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

<210> 176  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 50D03

15  
 <400> 176

Thr Ile Thr Ser Ser Gly Lys Thr Asn Tyr Ala Ala Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

20  
 <210> 177  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

25  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 50D07

<400> 177

30  
 Thr Ile Thr Ser Asp Gln Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

<210> 178  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 50E02

40  
 <400> 178

Ala Ile Thr Ser Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

45  
 <210> 179  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 51B08

<400> 179

55  
 Gly Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Arg Gly  
 1 5 10 15

<210> 180  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60

ES 2 703 192 T3

<220>  
 <223> CDR2 de VHH sequence 51C06

<400> 180

5  
 Ala Ile Thr Thr Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

<210> 181  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR2 de VHH sequence 51C08

15  
 <400> 181

Thr Ile Ser Asn Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

20  
 <210> 182  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 52A01

25  
 <400> 182

Ser Ile Ser Thr Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

30  
 <210> 183  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 52B01

35  
 <400> 183

Thr Ile Ser Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

40  
 <210> 184  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 52G05

45  
 <400> 184

Ser Ile Thr Arg Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asp  
 1 5 10 15

50  
 <210> 185  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55  
 <210> 185  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60

ES 2 703 192 T3

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 53A01  
 <400> 185  
 5 Ser Ile Ser Ser Gly Gly Trp Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 <210> 186  
 <211> 16  
 10 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 53F05  
 15 <400> 186  
 Ser Ile Thr Thr Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Glu Pro Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 20 <210> 187  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54A02  
 <400> 187  
 Ala Asn Arg Trp Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Arg  
 1 5 10 15  
 30 Gly  
 <210> 188  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 35 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54B01  
 40 <400> 188  
 Gly Ile Thr Trp Thr Gly Gly Ser Thr Asp Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15  
 Gly  
 <210> 189  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54C01  
 50 <400> 189

ES 2 703 192 T3

Ala Ile Ser Trp Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15

Asp

5 <210> 190  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54C04

<400> 190

Asp Met Thr Ser Gly Gly Ser Ile Asn Tyr Ala Asp Ser Val Ser Gly  
 1 5 10 15

15 <210> 191  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54C08

<400> 191

Ser Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

25 <210> 192  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54C10

<400> 192

Gln Ile Thr Arg Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

35 <210> 193  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

40 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54C11

<400> 193

Asn Ile Thr Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15

45 <210> 194  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

50 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54D03

55

ES 2 703 192 T3

<400> 194

Ser Ile Ser Ser Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Ser Glu Ser Val Lys Gly  
 1                    5                                    10                                    15

5

<210> 195  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54D06

<400> 195

15

Thr Ile Thr Arg Gly Gly Ile Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1                    5                                    10                                    15

<210> 196  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54D10

25

<400> 196

Ile Thr Ser Thr Ser Gly Thr Thr Asp Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly  
 1                    5                                    10                                    15

30

<210> 197  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54E01

<400> 197

40

Ala Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Tyr Val Lys Gly  
 1                    5                                    10                                    15

<210> 198  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54E05

50

<400> 198

Ala Ile Thr Asn Arg Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Phe Val Lys Gly  
 1                    5                                    10                                    15

55

<210> 199  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54E10

ES 2 703 192 T3

<400> 199

Ala Ile Thr Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1                    5                    10                    15

5

<210> 200  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54F01

<400> 200

15

Thr Ile Thr Arg Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1                    5                    10                    15

<210> 201  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54F02

25

<400> 201

Thr Ile Thr Ser Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Asn  
 1                    5                    10                    15

30

<210> 202  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

35

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54G01

<400> 202

Ile Ile Ser Ser Asn Ser Thr Ser Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1                    5                    10                    15

40

<210> 203  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54G08

50

<400> 203

Ala Ile Thr Ser Ser Ser Asn Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1                    5                    10                    15

55

<210> 204  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

60

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 54G09

ES 2 703 192 T3

<400> 204

Thr Ile Thr Ser Asp Gln Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1                    5                                    10                                    15

5

<210> 205  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

10

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 55B02

<400> 205

15

Asp Met Arg Ser Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1                    5                                    10                                    15

<210> 206  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 55B05

25

<400> 206

Arg Ile Ser Trp Ser Gly Ile Met Ala Tyr Tyr Ala Glu Ser Val Lys  
 1                    5                                    10                                    15

Gly

<210> 207  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 55C05

35

<400> 207

Gln Ile Thr Arg Gly Asp Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1                    5                                    10                                    15

40

<210> 208  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 55D08

<400> 208

50

Thr Ile Thr Ser Ala Gly Ser Ser Asn Tyr Ser Asp Ser Val Lys Gly  
 1                    5                                    10                                    15

<210> 209  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55

ES 2 703 192 T3

<220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 55E02  
 <400> 209  
 5 Arg Ile Leu Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 <210> 210  
 <211> 16  
 10 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 55E07  
 15 <400> 210  
 Arg Ile Thr Ser Gly Gly Ser Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 20 <210> 211  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 25 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 55E09  
 <400> 211  
 Ala Ile Ile Trp Ser Gly Gly Arg Thr Arg Tyr Ala Asp Ser Val Lys  
 1 5 10 15  
 30 Gly  
 <210> 212  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 35 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 55E10  
 40 <400> 212  
 Thr Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 45 <210> 213  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 55F04  
 50 <400> 213  
 Thr Ile Thr Ser Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 55 <210> 214  
 <211> 17

ES 2 703 192 T3

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 5 <223> CDR2 de VHH secuencia 55F09  
  
 <400> 214  
  
**Ala Ile Thr Pro Gly Gly Gly Asn Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys**  
**1 5 10 15**  
  
 Gly  
 10 <210> 215  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15  
  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 55F10  
  
 <400> 215  
 20  
**Thr Ile Arg Arg Ser Gly Ser Ser Thr Tyr Tyr Leu Asp Ser Thr Lys**  
**1 5 10 15**  
  
 Gly  
  
 <210> 216  
 <211> 16  
 25 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 55G02  
 30  
  
 <400> 216  
  
**Phe Ile Thr Ser Gly Gly Ile Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly**  
**1 5 10 15**  
 35  
 <210> 217  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 40  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 55G08  
  
 <400> 217  
  
**Ser Ile Ser Ser Gly Gly Thr Thr Asp Tyr Val Glu Ser Val Lys Gly**  
**1 5 10 15**  
 45  
  
 <210> 218  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 50 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 56A05  
  
 55 <400> 218

ES 2 703 192 T3

Ser Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 5 <210> 219  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 10 <223> CDR2 de VHH secuencia 56A06  
 <400> 219  
 Arg Ile Thr Asn Ile Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 15 <210> 220  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 56A09  
 <400> 220  
 25 Thr Ile Thr Arg Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 30 <210> 221  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 35 <223> CDR2 de VHH secuencia 56C09  
 <400> 221  
 Asn Ile Thr Ser Val Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 40 <210> 222  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 56C12  
 <400> 222  
 Ser Ile Ser Gly Ile Arg Ile Thr Thr Tyr Thr Asn Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 50 <210> 223  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 56D07  
 60 <400> 223

ES 2 703 192 T3

Val Ile Thr Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 5 <210> 224  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 10 <223> CDR2 de VHH secuencia 56D07  
 <400> 224  
 Val Ile Thr Ser Gly Gly Arg Thr Asn Tyr Ala Glu Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 15 <210> 225  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 56D10  
 <400> 225  
 25 Ser Ser Ser Ser Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Ser Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 30 <210> 226  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 35 <223> CDR2 de VHH secuencia 56E04  
 <400> 226  
 Lys Ile Thr Thr Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 40 <210> 227  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 56E05  
 <400> 227  
 Arg Ile Ser Ser Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 50 <210> 228  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 56E08  
 60 <400> 228

ES 2 703 192 T3

Thr Ile Thr Ser Ala Asn Ile Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 5 <210> 229  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 10 <223> CDR2 de VHH secuencia 56F07  
 <400> 229  
 Ile Ile Thr Asn Asp Asp Ser Thr Thr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 15 <210> 230  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 56F11  
 <400> 230  
 25 Thr Ile Thr Ser Gly Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 30 <210> 231  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 35 <223> CDR2 de VHH secuencia 56G07  
 <400> 231  
 Thr Ile Thr Pro Phe Gly Arg Arg Asn Tyr Ser Glu Tyr Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 40 <210> 232  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 56G08  
 <400> 232  
 Thr Leu Ser Arg Ala Gly Thr Ser Arg Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 50 <210> 233  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 56G10  
 60 <400> 233

ES 2 703 192 T3

Glu Ile Ser Ser Arg Gly Thr Thr Met Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 5 <210> 234  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 10 <223> CDR2 de VHH secuencia 56H04  
 <400> 234  
 Arg Ile Ser Thr Val Gly Thr Ala His Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 15 <210> 235  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 56H05  
 <400> 235  
 25 Gln Ile Asn Asn Arg Asp Asn Thr Glu Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 30 <210> 236  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 35 <223> CDR2 de VHH secuencia 56H07  
 <400> 236  
 Ser Ile Ser Thr Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 40 <210> 237  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 56H08  
 <400> 237  
 Val Ile Ser Ser Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 50 <210> 238  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 57A06  
 60 <400> 238

ES 2 703 192 T3

Arg Ile Ser Ser Gly Gly Asn Thr Asn Tyr Thr Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 5 <210> 239  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 10 <223> CDR2 de VHH secuencia 57B01  
 <400> 239  
 Arg Ile Ser Ser Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 15 <210> 240  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 57B07  
 <400> 240  
 25 Thr Val Asp Ser Gly Gly Tyr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 30 <210> 241  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 35 <223> CDR2 de VHH secuencia 57B11  
 <400> 241  
 Leu Ile Arg Ser Ser Gly Gly Thr Tyr Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 40 <210> 242  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 57C07  
 <400> 242  
 Ser Ile Ser Arg Gly Gly Met Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 50 <210> 243  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 57C09  
 60 <400> 243

ES 2 703 192 T3

Ser Ile Ser Ser Gly Gly Ala Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 5 <210> 244  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 10 <223> CDR2 de VHH secuencia 57D02  
 <400> 244  
 Thr Ile Thr Arg Arg Ser Arg Thr Asn Tyr Ala Glu Phe Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 15 <210> 245  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 57D09  
 <400> 245  
 25 Ser Ile Thr Thr Gly Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 30 <210> 246  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 35 <223> CDR2 de VHH secuencia 57D10  
 <400> 246  
 Ser Ile Thr Lys Asp Gly Thr Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 40 <210> 247  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 57E07  
 <400> 247  
 Asp Ile Thr Arg Ser Gly Ser Thr His Tyr Val Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 50 <210> 248  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 57E11  
 60 <400> 248

ES 2 703 192 T3

Arg Ile Ser Arg Leu Arg Val Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 5 <210> 249  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 10 <223> CDR2 de VHH secuencia 57G01  
 <400> 249  
 Thr Ile Ser Asn Ser Gly Thr Thr Asn Tyr Val Asp Ala Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 15 <210> 250  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 57G07  
 <400> 250  
 25 Thr Ile Arg Arg Gly Gly Asn Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 30 <210> 251  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 35 <223> CDR2 de VHH secuencia 57G08  
 <400> 251  
 Thr Ile Asp Ile His Asn Ser Thr Lys Tyr Ala Asp Ser Val Lys Gly  
 1 5 10 15  
 40 <210> 252  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> CDR2 de VHH secuencia 57H08  
 <400> 252  
 Gln Gln Arg Tyr Asp Gly Ser Thr Asn Tyr Ala Asp Ser Leu Gln Gly  
 1 5 10 15  
 50 <210> 253  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 55 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR1 de VHH secuencia 40F07  
 60 <400> 253



ES 2 703 192 T3

Asp Arg Trp Val Leu Thr Arg Trp Ser Asn Tyr  
 1                    5                    10  
  
 <210> 259  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 42C12  
  
 <400> 259  
  
 Gln Arg Gly Val Ala Trp Thr Arg Lys Glu Tyr  
 1                    5                    10  
  
 <210> 260  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 50D03  
  
 <400> 260  
  
 Asp Arg Trp Val Leu Thr Arg Trp Ser Asn Tyr  
 1                    5                    10  
  
 <210> 261  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 50D07  
  
 <400> 261  
  
 Arg Val Arg Thr Val Leu Arg Gly Trp Arg Asp Tyr  
 1                    5                    10  
  
 <210> 262  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 50E02  
  
 <400> 262  
  
 Arg Arg Arg Thr Phe Leu Lys Ser Ser Asp Tyr  
 1                    5                    10  
  
 <210> 263  
 <211> 15  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 51B08  
  
 <400> 263



ES 2 703 192 T3

Arg Arg Tyr Tyr Thr Arg Asn Asp Tyr  
 1 5  
 <210> 269  
 <211> 6  
 5 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 53A01  
 10 <400> 269  
 Gly Ala Ile Gly Asn Trp  
 1 5  
 15 <210> 270  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 20 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 53F05  
 <400> 270  
 Glu Arg Arg Trp Gly Leu Pro Asn Tyr  
 25 1 5  
 <210> 271  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 30 <213> Secuencia artificial  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 54A02  
 35 <400> 271  
 Tyr Ala His Ile Thr Ala Trp Gly Met Arg Asn Asp Tyr Glu Tyr Asp  
 1 5 10 15  
 40 Tyr  
 <210> 272  
 <211> 16  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 45 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 54B01  
 <400> 272  
 50 Gly Asn Leu Leu Arg Leu Ala Gly Gln Leu Arg Arg Gly Tyr Asp Ser  
 1 5 10 15  
 <210> 273  
 <211> 20  
 55 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 <220>

ES 2 703 192 T3

<223> CDR3 de VHH sequence 54C01

<400> 273

Arg Asn Arg Ala Gly Pro His Tyr Ser Arg Gly Tyr Thr Ala Gly Gln  
1 5 10 15

5 Glu Tyr Asp Tyr  
20

<210> 274

<211> 13

<212> PRT

10 <213> Secuencia artificial

<220>

<223> CDR3 de VHH sequence 54C04

15 <400> 274

Asn Leu Arg Thr Ala Phe Trp Arg Asn Gly Asn Asp Tyr  
1 5 10

20 <210> 275

<211> 7

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

25 <220>

<223> CDR3 de VHH sequence 54C08

<400> 275

Gly Pro Trp Tyr Arg Arg Ser  
1 5

30 <210> 276

<211> 8

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

35 <220>

<223> CDR3 de VHH sequence 54C10

<400> 276

Asp Leu Ala Val Arg Gly Arg Tyr  
1 5

40 <210> 277

<211> 11

<212> PRT

<213> Secuencia artificial

45 <220>

<223> CDR3 de VHH sequence 54C11

50 <400> 277

Arg Ile Gly Phe Gly Trp Thr Ala Lys Ala Tyr  
1 5 10

55 <210> 278

<211> 8

ES 2 703 192 T3

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 5 <223> CDR3 de VHH secuencia 54D03  
  
 <400> 278  
  
 Val Arg Leu Trp Phe Pro Asp Tyr  
 1 5  
 10  
 <210> 279  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 54D06  
  
 <400> 279  
 20  
 Arg Ser Trp Val Gly Pro Glu Tyr  
 1 5  
  
 <210> 280  
 <211> 12  
 25 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 54D10  
 30  
 <400> 280  
  
 Lys Thr Arg Thr Trp Tyr Asn Gly Lys Tyr Asp Tyr  
 1 5 10  
 35  
 <210> 281  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH sequence 54E01  
  
 <400> 281  
  
 Arg Ser Thr Leu Trp Arg Arg Asp Tyr  
 1 5  
 45  
 <210> 282  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 50 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH sequence 54E05  
  
 <400> 282  
 55  
 His Arg Ser Trp Pro Arg Tyr Asp Ser  
 1 5  
  
 <210> 283  
 60 <211> 10

ES 2 703 192 T3

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 5 <223> CDR3 de VHH sequence 54E10  
  
 <400> 283  
  
 Glu Ser Arg Ile Phe Arg Arg Tyr Asp Tyr  
 1 5 10  
 10  
 <210> 284  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 54F01  
  
 <400> 284  
 20  
 Asp Arg Gly Trp Ser Ser Tyr  
 1 5  
  
 <210> 285  
 <211> 11  
 25 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 54F02  
 30  
 <400> 285  
  
 His Gln Arg Ala Trp Ala Arg Ser Tyr Val Tyr  
 1 5 10  
 35  
 <210> 286  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 54G01  
  
 <400> 286  
  
 Lys Arg Ser Trp Phe Ser Gln Glu Tyr  
 1 5  
 45  
 <210> 287  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 50 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 54G08  
  
 <400> 287  
 55  
 Gln Tyr Thr Ile Thr Pro Trp Gly Ile Lys Lys Asp Tyr  
 1 5 10  
  
 <210> 288  
 60 <211> 12

ES 2 703 192 T3

<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
5 <223> CDR3 de VHH secuencia 54G09

<400> 288

Arg Val Arg Thr Val Leu Arg Gly Trp Arg Asp Tyr  
1 5 10

10 <210> 289  
<211> 9  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> CDR3 de VHH secuencia 55B02

<400> 289

20 Asn Ser Ile Phe Arg Ser Arg Asp Tyr  
1 5

<210> 290  
<211> 16  
25 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
30 <223> CDR3 de VHH secuencia 55B05

<400> 290

Arg Ser Gln Ile Arg Ser Pro Trp Ser Ser Leu Asp Asp Tyr Asp Arg  
1 5 10 15

35 <210> 291  
<211> 8  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> CDR3 de VHH sequence 55C05

<400> 291

45 Asp Arg Phe Phe Gly Arg Asp Tyr  
1 5

<210> 292  
<211> 12  
<212> PRT  
50 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> CDR3 de VHH secuencia 55D08

55 <400> 292

Val Tyr Ser Arg Pro Leu Leu Gly Pro Leu Glu Val  
1 5 10

60 <210> 293  
<211> 7

ES 2 703 192 T3

<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
5 <223> CDR3 de VHH secuencia 55E02

<400> 293

Val Arg Tyr Leu Val Asn Tyr  
1 5

10 <210> 294  
<211> 13  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

15 <220>  
<223> CDR3 de VHH secuencia 55E07

<400> 294

20 Gly Val Val Val Ala Thr Ser Pro Lys Phe Tyr Ala Tyr  
1 5 10

<210> 295  
<211> 7  
25 <212> PRT  
<213> Secuencia artificial

<220>  
<223> CDR3 de VHH secuencia 55E09

30 <400> 295

Arg Arg Leu Gly Thr Gly Tyr  
1 5

35 <210> 296  
<211> 7  
<212> PRT  
<213> Secuencia artificial

40 <220>  
<223> CDR3 de VHH secuencia 55E10

<400> 296

Arg Tyr Trp Phe Arg Asp Tyr  
1 5

45 <210> 297  
<211> 7  
<212> PRT  
50 <213> Secuencia artificial

<220>  
<223> CDR3 de VHH secuencia 55F04

55 <400> 297

Val Arg Leu Phe Arg Gln Tyr  
1 5

60 <210> 298  
<211> 16

ES 2 703 192 T3

<212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 5 <223> CDR3 de VHH secuencia 55F09  
  
 <400> 298  
  
 Gly Gly Ser Ser Arg Trp Tyr Ser Ser Arg Tyr Tyr Pro Gly Gly Tyr  
 1 5 10 15  
 10  
 <210> 299  
 <211> 17  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 15  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 55F10  
  
 <400> 299  
 20  
 Asp Ser Ser Ala Arg Ala Leu Val Gly Gly Pro Gly Asn Arg Trp Asp  
 1 5 10 15  
  
 Tyr  
  
 <210> 300  
 <211> 10  
 25 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 55G02  
 30  
 <400> 300  
  
 Lys Asn Ala Lys Asn Val Arg Pro Gly Tyr  
 1 5 10  
 35  
 <210> 301  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 40  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 55G08  
  
 <400> 301  
  
 Val Arg Phe Trp Phe Pro Asp Tyr  
 1 5  
 45  
 <210> 302  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
 50  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56A05  
  
 <400> 302  
 55  
 Arg Arg Asn Val Phe Ile Ser Ser  
 1 5

5 <210> 303  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56A06  
  
 10 <400> 303  
  
 Arg Arg Leu Gly Arg Asp Tyr  
 1 5  
  
 15 <210> 304  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56A09  
  
 <400> 304  
  
 Asn Phe Gly Ile Leu Val Gly Arg Glu Tyr  
 1 5 10  
  
 25 <210> 305  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH sequence 56C09  
  
 <400> 305  
  
 35 Arg Met Pro Phe Leu Gly Asp Ser  
 1 5  
  
 <210> 306  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56D06  
  
 <400> 306  
  
 Thr Ser Ile Thr Gly Thr Tyr Leu  
 1 5  
  
 50 <210> 307  
 <211> 6  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56D07  
  
 <400> 307  
  
 Lys Thr Ile Arg Pro Tyr  
 1 5  
  
 60

ES 2 703 192 T3

5 <210> 308  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56D10

10 <400> 308

Arg Lys Phe Ile Thr Thr Pro Trp Ser Thr Asp Tyr  
 1 5 10

15 <210> 309  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> CDR3 de VHH sequence 56E04

<400> 309

Glu Arg Tyr Phe Ala Thr Thr Leu  
 1 5

25 <210> 310  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> CDR3 de VHH sequence 56E05

<400> 310

35 Gln Arg Arg Val Ile Leu Gly Pro Arg Asn Tyr  
 1 5 10

40 <210> 311  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> CDR3 de VHH sequence 56E08

<400> 311

Gln Ala Lys Lys Trp Arg Ile Gly Pro Trp Ser Asp Tyr  
 1 5 10

50 <210> 312  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56F07

<400> 312

60 Asp Ile Asn Thr Ala Ile Trp Arg Arg Lys Tyr  
 1 5 10

ES 2 703 192 T3

5 <210> 313  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56F11

10 <400> 313

Asn Thr Arg Arg Ile Phe Gly Gly Thr Val Arg Glu Tyr  
 1 5 10

15 <210> 314  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56G07

<400> 314

Arg Val Asn Gly Val Asp Tyr  
 1 5

25 <210> 315  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56G08

<400> 315

35 Ala Gln Leu Gly Thr Asp Tyr  
 1 5

40 <210> 316  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56G10

<400> 316

Arg Ala Phe Ala Phe Gly Arg Asn Ser  
 1 5

50 <210> 317  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56H04

<400> 317

60 Gln Ala Gly Arg Leu Tyr Leu Arg Asn Tyr  
 1 5 10

5 <210> 318  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56H05  
  
 10 <400> 318  
  
 Lys Arg Trp Ser Trp Ser Thr Gly Phe  
 1 5  
  
 15 <210> 319  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56H07  
  
 <400> 319  
  
 Arg Leu Trp Trp Ser Asn Tyr  
 1 5  
  
 25 <210> 320  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 56H08  
  
 <400> 320  
  
 35 Asn Arg Arg Trp Ser Trp Gly Ser Glu Tyr  
 1 5 10  
  
 <210> 321  
 <211> 11  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 57A06  
  
 45 <400> 321  
  
 Gln Arg Arg Val Ile Leu Gly Pro Arg Asn Tyr  
 1 5 10  
  
 50 <210> 322  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial  
  
 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 57B01  
  
 <400> 322  
  
 60 Asn Arg His Trp Gly Trp Asp Tyr  
 1 5

ES 2 703 192 T3

5 <210> 323  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 57B07

10 <400> 323

Gly Ile Tyr Lys Trp Pro Trp Ser Val Asp Ala Arg Asp Tyr  
 1 5 10

15 <210> 324  
 <211> 9  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 57B11

<400> 324

Arg Arg Thr Trp Leu Ser Ser Glu Ser  
 1 5

25 <210> 325  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> CDR3 de VHH sequence 57C07

<400> 325

35 Gly Ile Arg Ser Arg Trp Tyr Gly Gly Pro Ile Thr Thr Tyr  
 1 5 10

40 <210> 326  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> CDR3 de VHH sequence 57C09

<400> 326

Lys Lys Ser Arg Trp Ser Trp Ser Ile Val His Asp Tyr  
 1 5 10

50 <210> 327  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 57D02

<400> 327

60 Arg Trp Gly Ala Gly Gly Ile Phe Ser Thr  
 1 5 10

ES 2 703 192 T3

5 <210> 328  
 <211> 13  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 57D09

10 <400> 328

Lys Val Arg Leu Arg Trp Phe Arg Pro Pro Ser Asp Tyr  
 1 5 10

15 <210> 329  
 <211> 14  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 57D10

<400> 329

Arg Ala Thr Thr Trp Val Pro Tyr Arg Arg Asp Ala Glu Phe  
 1 5 10

25 <210> 330  
 <211> 12  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 57E07

<400> 330

35 Asp Ser Gly Ser His Trp Trp Asn Arg Arg Asp Tyr  
 1 5 10

40 <210> 331  
 <211> 10  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

45 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 57E11

<400> 331

Ala Asn Trp Gly Leu Ala Gly Asn Glu Tyr  
 1 5 10

50 <210> 332  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

55 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 57G01

<400> 332

60 Gln Thr Phe Trp Arg Arg Asn Tyr  
 1 5

5 <210> 333  
 <211> 8  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

<220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 57G07

10 <400> 333

His Ser Trp Leu Asp Tyr Asp Tyr  
 1 5

15 <210> 334  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

20 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 57G08

<400> 334

Ile Pro Thr Phe Gly Arg Tyr  
 1 5

25 <210> 335  
 <211> 7  
 <212> PRT  
 <213> Secuencia artificial

30 <220>  
 <223> CDR3 de VHH secuencia 57H08

<400> 335

35 Asn Arg Gly Phe Ile Ser Tyr  
 1 5

**REIVINDICACIONES**

- 5 **1.** Una composición agroquímica para proteger o tratar una planta o una parte de dicha planta de una infección u otra interacción biológica con un hongo fitopatógeno, que contiene al menos un  $V_{HH}$ , que se une específicamente a la glucosilceramida de un hongo fitopatógeno, y un agente humectante.
- 10 **2.** La composición agroquímica de acuerdo con la reivindicación 1, donde el género de dicho hongo fitopatógeno se elige del grupo compuesto por *Alternaria*, *Ascochyta*, *Botrytis*, *Cercospora*, *Colletotrichum*, *Diplodia*, *Erysiphe*, *Fusarium*, *Leptosphaeria*, *Gaeumanomyces*, *Helminthosporium*, *Macrophomina*, *Nectria*, *Penicillium*, *Peronospora*, *Phoma*, *Phymatotrichum*, *Phytophthora*, *Plasmopara*, *Podosphaera*, *Puccinia*, *Pyrenophora*, *Pyricularia*, *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Scerotium*, *Sclerotinia*, *Septoria*, *Thielaviopsis*, *Uncinula*, *Venturia*, *Verticillium*, *Magnaporthe*, *Blumeria*, *Mycosphaerella*, *Ustilago*, *Melampsora*, *Phakospora*, *Monilinia*, *Mucor*, *Rhizopus*, y *Aspergillus*.
- 15 **3.** La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 2, donde dicho al menos un  $V_{HH}$  está presente en una cantidad eficaz para proteger o tratar una planta o una parte de dicha planta de una infección u otra interacción biológica con dicho hongo fitopatógeno.
- 20 **4.** La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, donde la concentración de dicho al menos un  $V_{HH}$  en la composición agroquímica varía entre 0.0001% y 50% en peso.
- 5.** La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, donde la concentración de dicho al menos un  $V_{HH}$  en la composición agroquímica varía entre 0.1% y 10% en peso.
- 25 **6.** La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, que contiene además un portador agroquímicamente adecuado y/o uno o más adyuvantes adecuados.
- 7.** La composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 6, donde dicho al menos un  $V_{HH}$  comprende
- 30 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 86, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 170, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 254, y/o  
una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 146, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 230, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 313, y/o
- 35 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 85, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 169, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 253, y/o  
una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 87, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 171, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 255, y/o
- 40 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 88, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 172, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 256, y/o  
una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 89, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 173, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 257, y/o
- 45 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 90, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 174, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 258, y/o  
una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 91, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 175, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 259, y/o
- una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 92, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 176, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 260, y/o
- 50 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 93, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 177, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 261, y/o  
una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 94, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 178, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 262, y/o
- una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 95, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 179, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 263, y/o
- 55 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 96, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 180, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 264, y/o  
una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 97, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 181, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 265, y/o
- una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 98, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 182, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 266, y/o
- 60 una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 99, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 183, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 267, y/o  
una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 100, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 184, y una región CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 268, y/o  
una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 101, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 185, y una región





CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 333, y/o  
una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 167, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 251, y una región  
CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 334, y/o  
una región CDR1 que tiene una SEC. ID N°: 168, una región CDR2 que tiene una SEC. ID N°: 252, y una región  
CDR3 que tiene una SEC. ID N°: 335.

5

**8.** Un método para proteger o tratar una planta o una parte de dicha planta de una infección u otra interacción biológica con un hongo fitopatógeno, que comprende al menos el paso de aplicar a dicha planta o a una parte de dicha planta una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en condiciones eficaces para proteger o tratar dicha planta o una parte de dicha planta contra dicha infección o interacción biológica con dicho hongo fitopatógeno.

10

**9.** El método de acuerdo con la reivindicación 8, donde dicha composición agroquímica se aplica a dicha planta o a una parte de dicha planta mediante aspersión, atomización, aplicación de espuma, nebulización, cultivo en hidrocultivo, cultivo en hidroponía, recubrimiento, sumersión y/o incrustación.

15

**10.** Un método de tratamiento postcosecha para proteger o tratar una planta cosechada o una parte cosechada de dicha planta de una infección u otra interacción biológica con un hongo fitopatógeno, que comprende al menos el paso de aplicar a dicha planta cosechada o a una parte cosechada de dicha planta una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7, en condiciones eficaces para proteger o tratar dicha planta cosechada o una parte cosechada de dicha planta contra dicha infección o interacción biológica con dicho hongo fitopatógeno.

20

**11.** El uso de una composición agroquímica de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 7 como un fungicida y/o un fungistático.

25

Figura 1

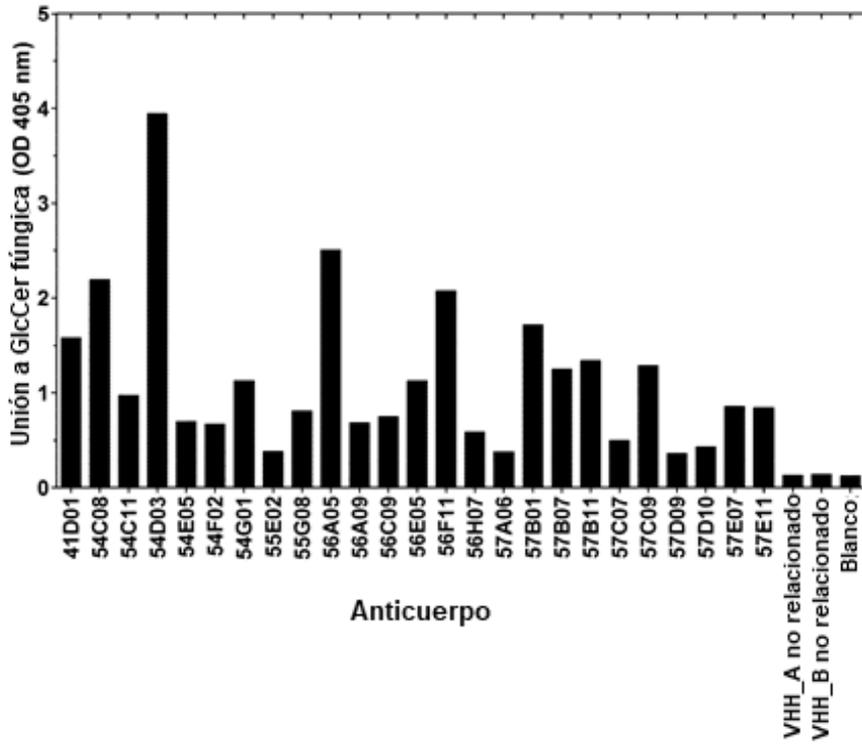


Figura 2

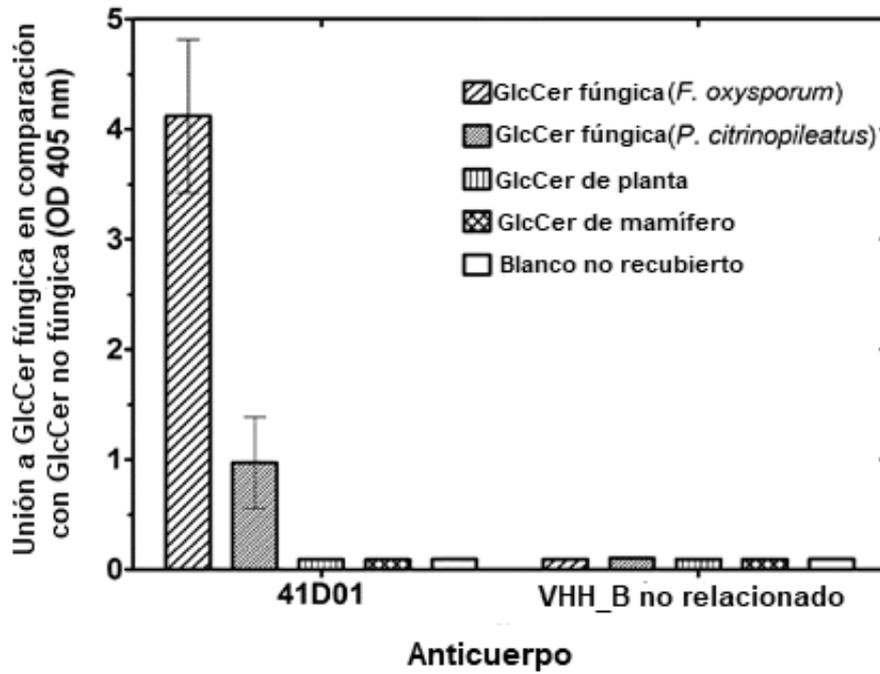


Figura 3A

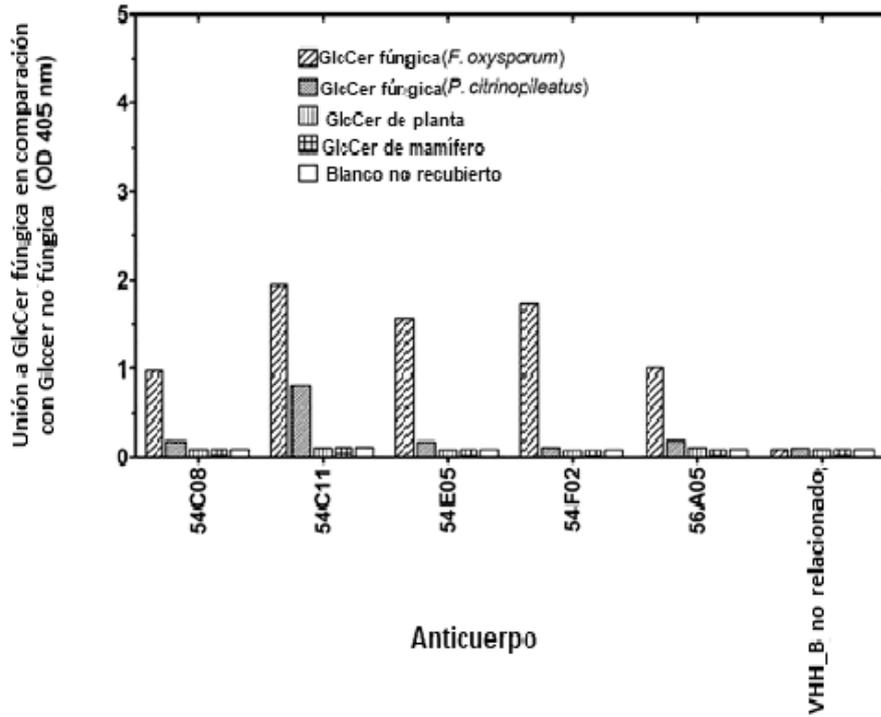


Figura 3B

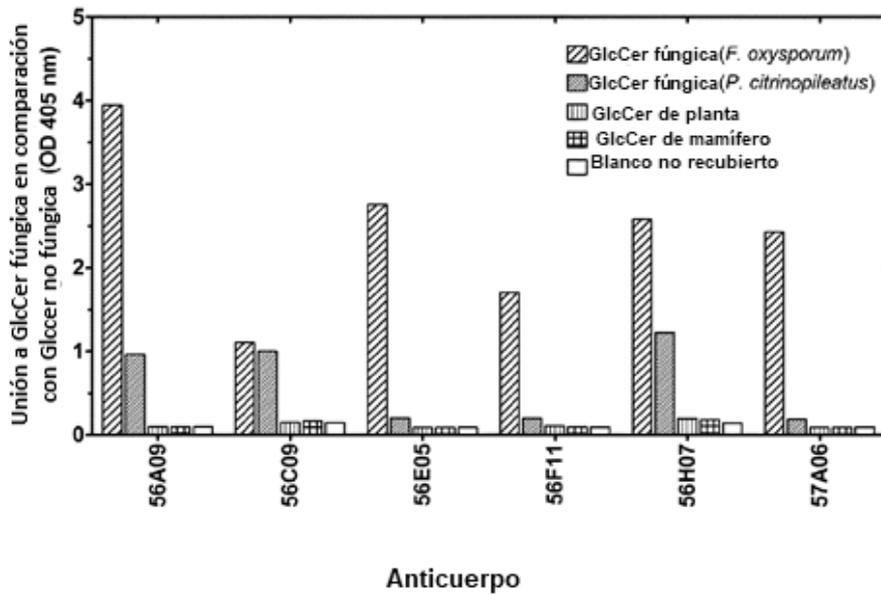


Figura 3C

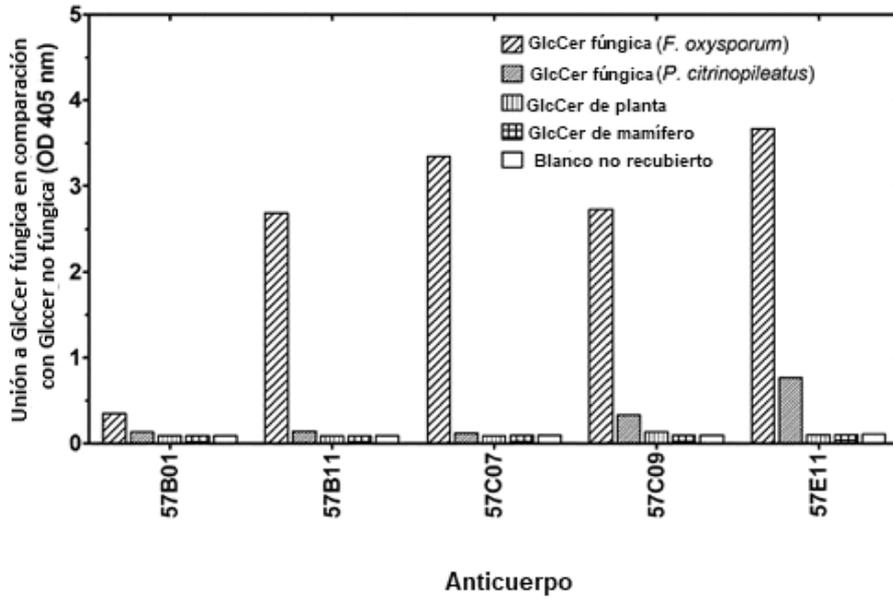


Figura 4

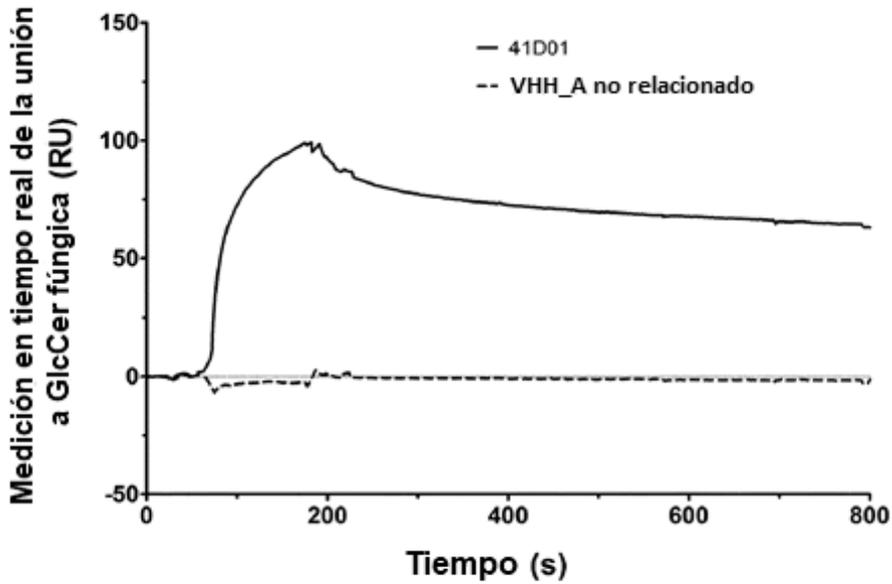


Figura 5

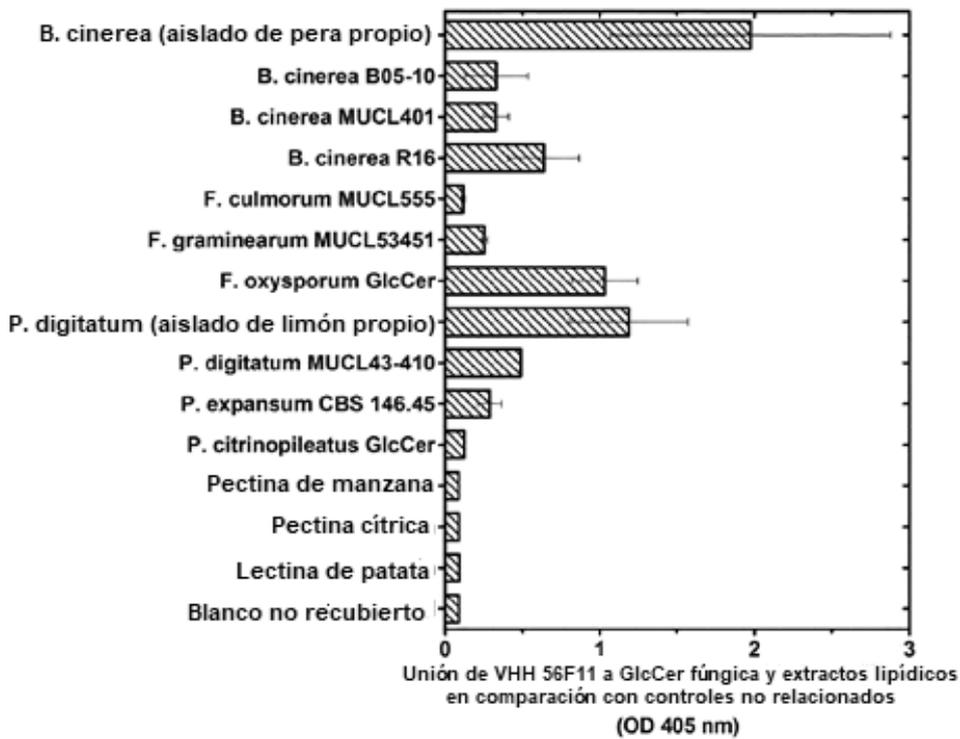
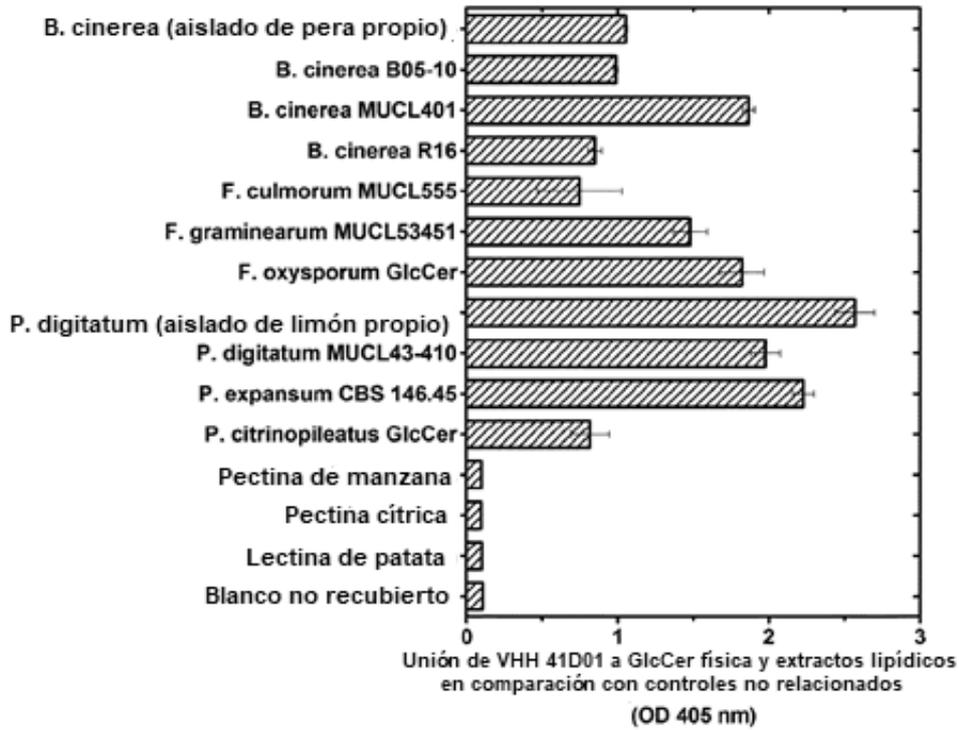


Figura 6

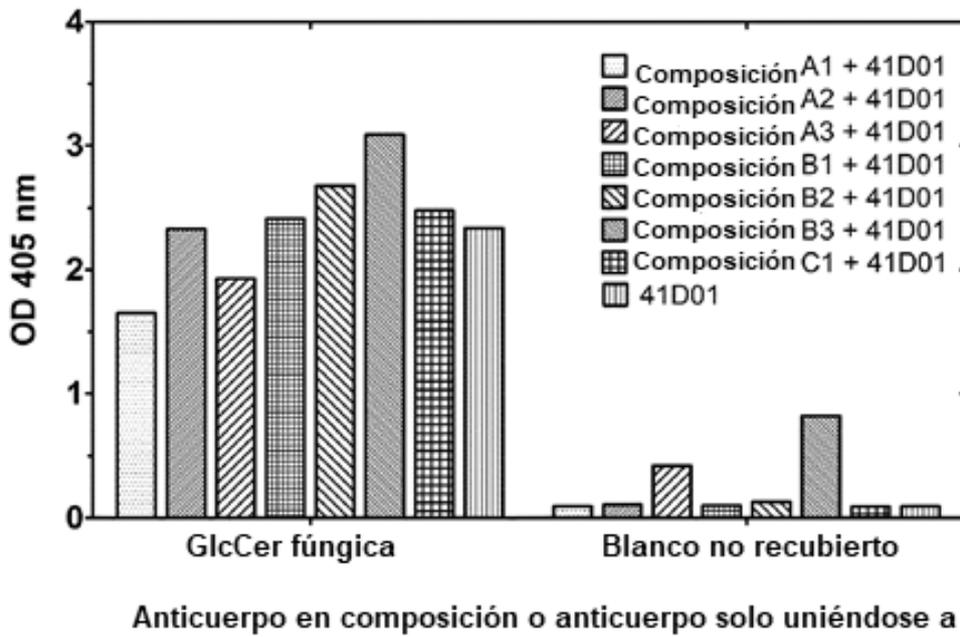


Figura 7A

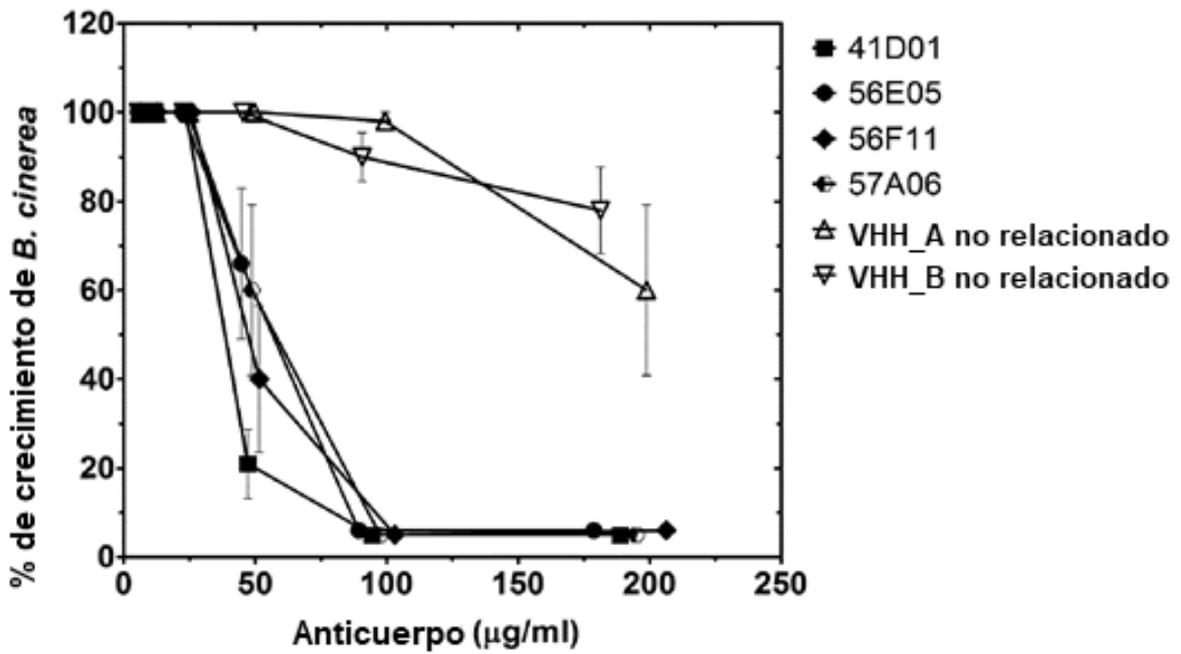


Figura 7B

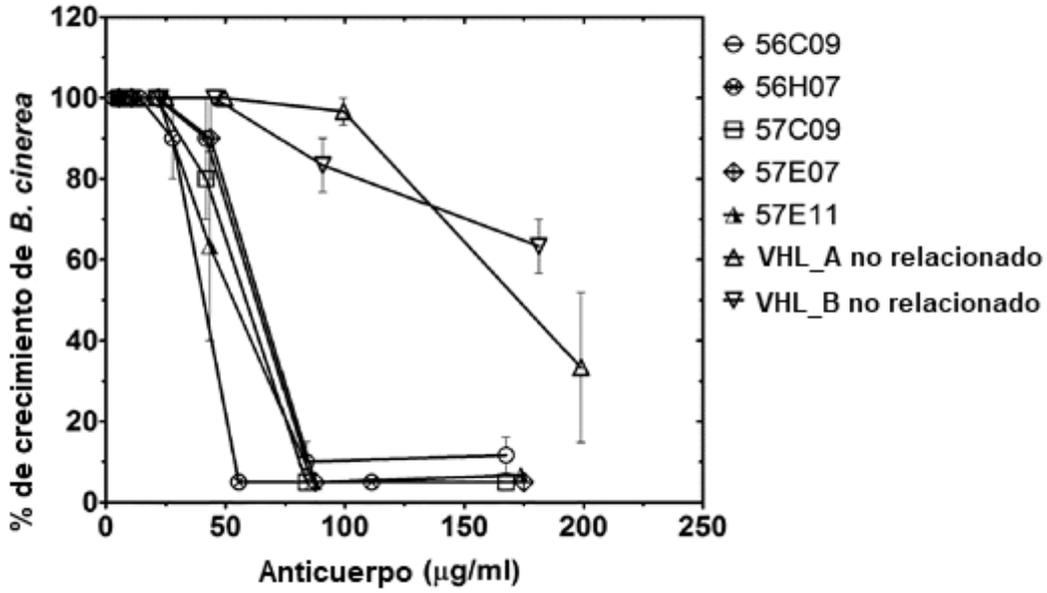


Figura 7C

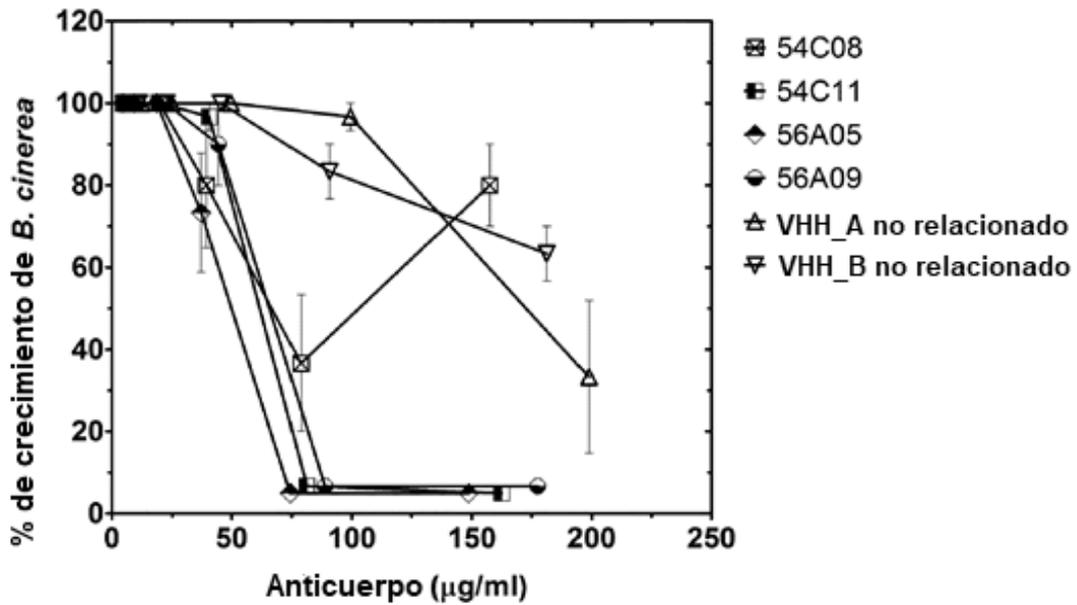


Figura 8A

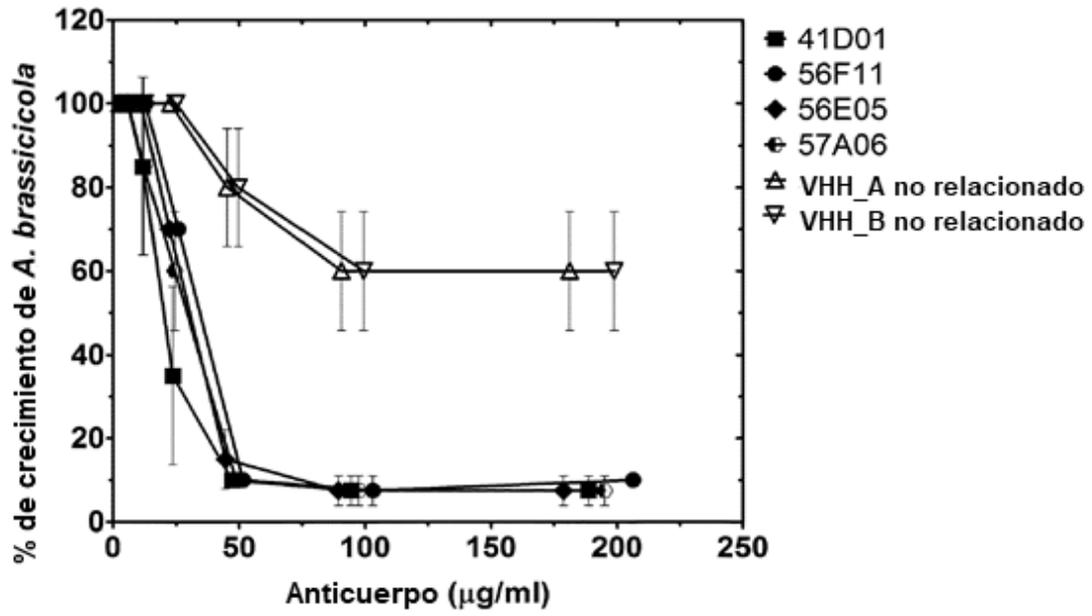


Figura 8B

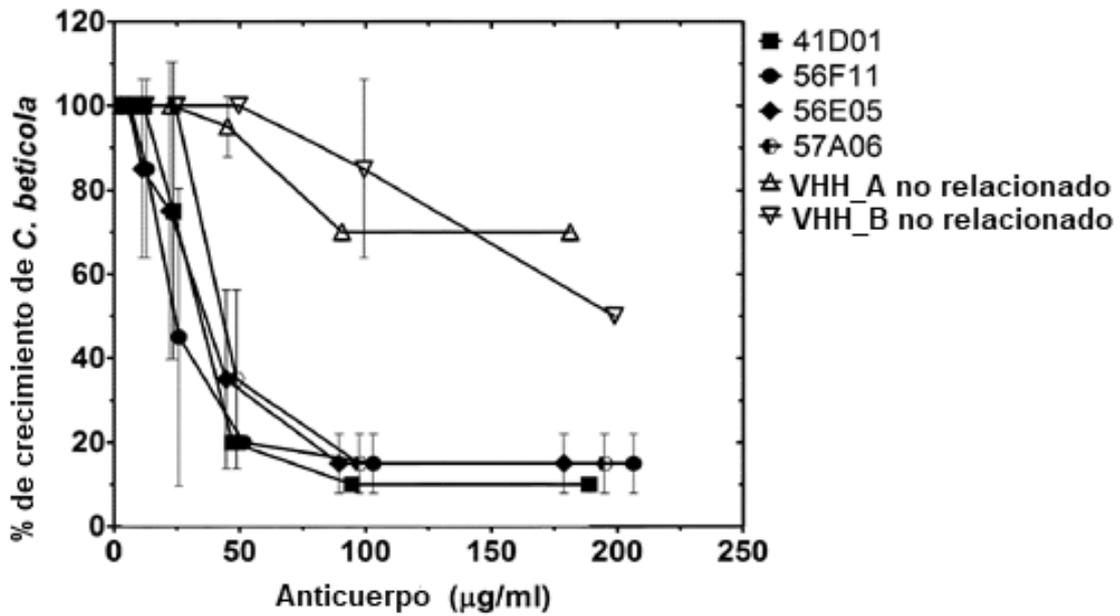


Figure 8C

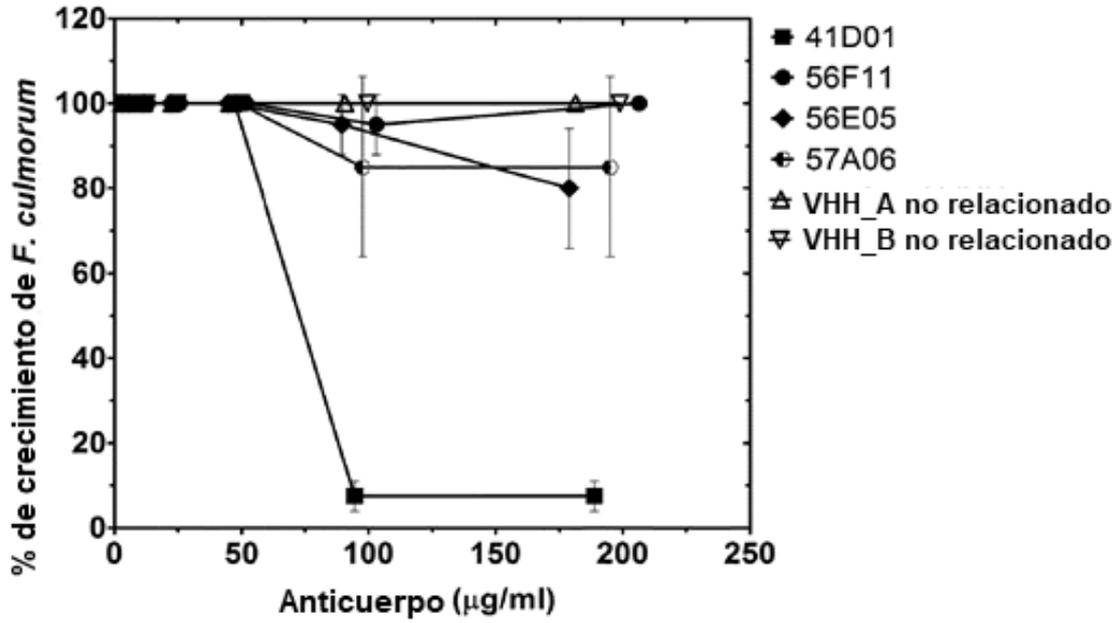


Figura 8D

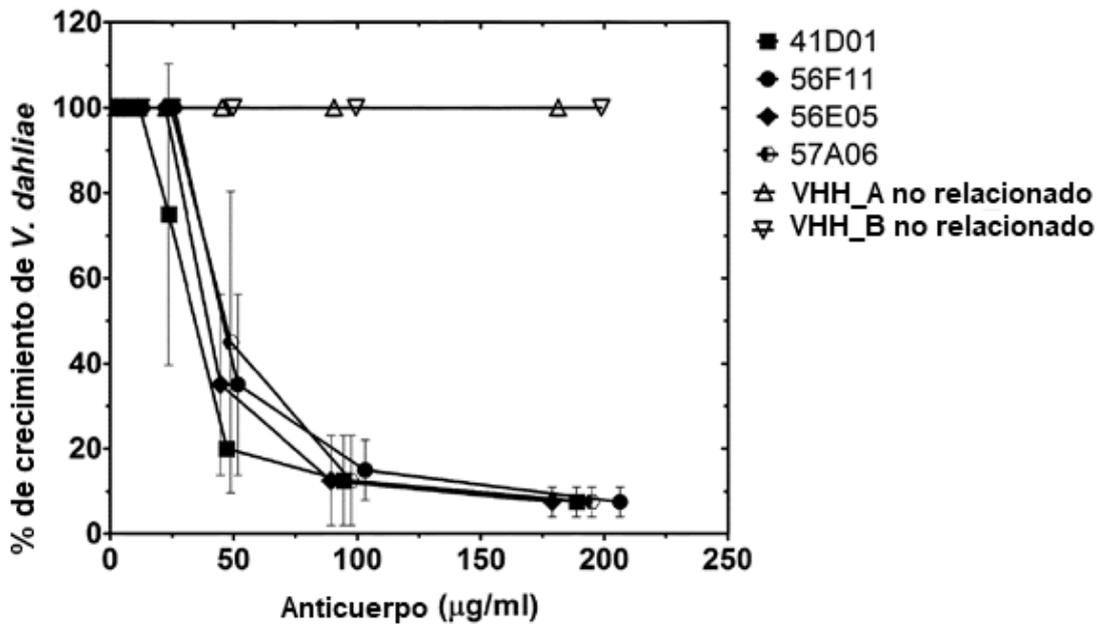


Figura 9

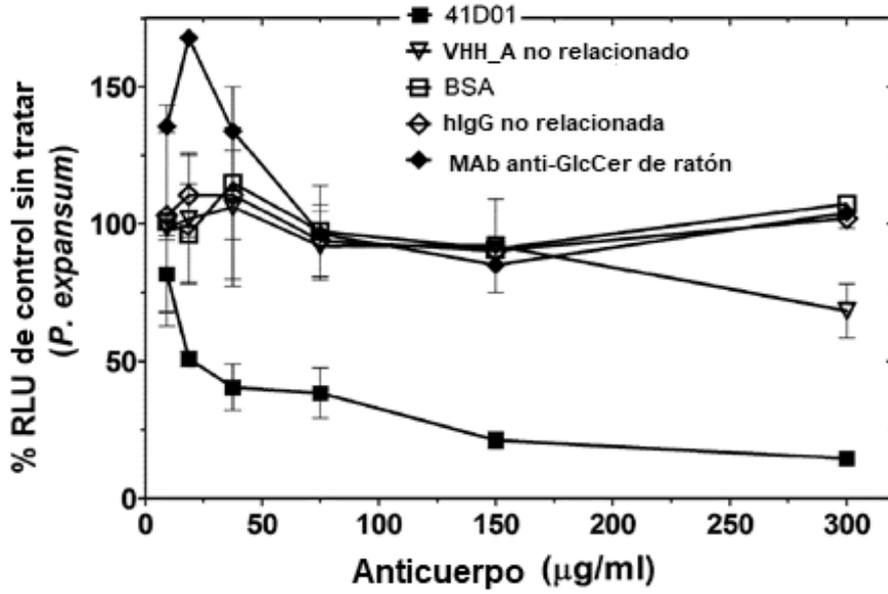


Figura 10

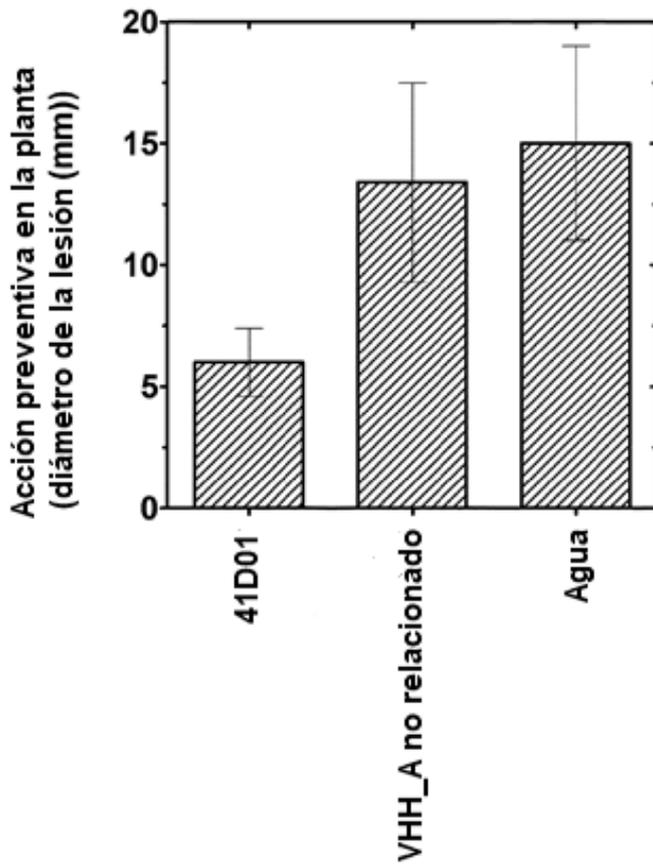


Figura 11

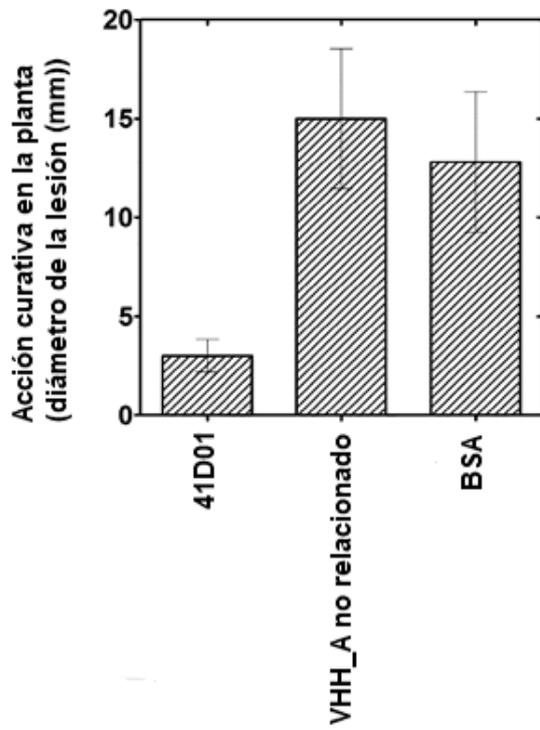


Figura 12

