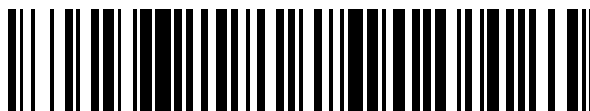


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 732 081**

51 Int. Cl.:

C07K 16/28 (2006.01)

G01N 33/53 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **13.05.2013** **PCT/EP2013/059802**

87 Fecha y número de publicación internacional: **06.02.2014** **WO14019727**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **13.05.2013** **E 13725298 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **01.05.2019** **EP 2850101**

54 Título: **Anticuerpos anti-FcRn**

30 Prioridad:

14.05.2012 GB 201208370

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

20.11.2019

73 Titular/es:

UCB BIOPHARMA SPRL (100.0%)

Allée de la Recherche 60

1070 Brussels, BE

72 Inventor/es:

**FINNEY, HELENE MARGARET;
LAWSON, ALASTAIR DAVID GRIFFITHS;
SHAW, STEVAN GRAHAM;
SMITH, BRYAN JOHN;
TYSON, KERRY LOUISE;
KEVORKIAN, LARA;
MEIER, CHRISTOPH;
ATHERFOLD, PAUL, ALAN y
SARKAR, KAUSHIK**

74 Agente/Representante:

PONS ARIÑO, Ángel

Observaciones :

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

ES 2 732 081 T3

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

DESCRIPCIÓN

Anticuerpos anti-FcRn

- 5 La divulgación se refiere a anticuerpos específicos para FcRn, formulaciones que comprenden los mismos, uso de cada uno en terapia, procesos para expresar y, opcionalmente, formular dicho anticuerpo, ADN que codifica los anticuerpos y hospedadores que comprenden dicho ADN.

- FcRn es un complejo no covalente de la cadena α de FcRn de la proteína de membrana y $\beta 2$ microglobulina ($\beta 2M$).
 10 En mamíferos adultos, FcRn desempeña un papel clave en el mantenimiento de los niveles de anticuerpos séricos mediante la actuación como un receptor que se une y recupera los anticuerpos del isotipo IgG. Las moléculas de IgG son endocitadas por las células endoteliales, y si se unen a FcRn, se reciclan y transcitositan, por ejemplo, a la circulación. Por el contrario, las moléculas de IgG que no se unen a FcRn entran en las células y se dirigen a la vía lisosomal donde se degradan. Una variante IgG1 en la que His435 se muta a alanina da como resultado la pérdida selectiva de la unión de FcRn y una semivida en suero significativamente reducida (Firan et al. 2001, International Immunology 13:993).

- Se plantea la hipótesis de que FcRn es una posible diana terapéutica para ciertos trastornos autoinmunitarios causados, al menos en parte, por autoanticuerpos. El tratamiento actual para algunos de dichos trastornos incluye la plasmaféresis. A veces, la plasmaféresis se emplea junto con la terapia inmunosupresora para el tratamiento a largo
 20 plazo de la enfermedad. El intercambio de plasma ofrece la respuesta a corto plazo más rápida para eliminar los autoanticuerpos dañinos. Sin embargo, también puede ser deseable suprimir la producción de autoanticuerpos mediante el sistema inmunitario, por ejemplo, mediante el uso de medicamentos como prednisona, ciclofosfamida, ciclosporina, micofenolato de mofetilo, rituximab o una mezcla de estos.

- 25 Los ejemplos de enfermedades que se pueden tratar con plasmaféresis incluyen: síndrome de Guillain-Barre; polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica; síndrome de Goodpasture; síndromes de hiperviscosidad; crioglobulinemia; paraproteinemia; macroglobulinemia de Waldenström; miastenia grave; púrpura trombocitopénica trombótica (TTP)/síndrome urémico hemolítico; granulomatosis de Wegener; síndrome de Lambert-Eaton; síndrome de anticuerpos antifosfolípidos (APS o APLS); poliangiitis microscópica; glomerulosclerosis focal y segmentaria recurrente en el riñón trasplantado; síndrome de HELLP; síndrome de PANDAS; enfermedad de Refsum; síndrome de Behcet; neuropatía relacionada con el VIH; enfermedad de Graves en lactantes y neonatos; pénfigo vulgar; esclerosis múltiple, rabdomiolisis y enfermedades aloinmunitarias.

- 35 La plasmaféresis se usa a veces como terapia de rescate para la eliminación de terapias que contienen Fc, por ejemplo, en emergencias para reducir los efectos secundarios graves. Aunque la plasmaféresis es útil en ciertas afecciones médicas, existen posibles riesgos y complicaciones asociados con la terapia. La inserción de un catéter intravenoso bastante grande puede provocar sangrado, punción pulmonar (según el lugar de inserción del catéter) y, si se deja el catéter demasiado tiempo, puede provocar una infección y/o daño en las venas, lo que brinda una
 40 oportunidad limitada para repetir el procedimiento.

- El procedimiento tiene otras complicaciones asociadas con él, por ejemplo, cuando la sangre de un paciente se encuentra fuera del cuerpo y pasa a través del instrumento de plasmaféresis, la sangre tiene una tendencia a coagularse. Para reducir esta tendencia, en un protocolo común, se infunde citrato mientras la sangre corre por el
 45 circuito. El citrato se une al calcio en la sangre, siendo el calcio esencial para que la sangre se coagule. El citrato es muy eficaz para prevenir la coagulación de la sangre; sin embargo, su uso puede llevar a niveles de calcio potencialmente mortales. Esto se puede detectar utilizando el signo de Chvostek o el signo de Trousseau. Para evitar esta complicación, el calcio se infunde por vía intravenosa mientras el paciente se está sometiendo a la plasmaféresis; además, también se puede administrar suplementos de calcio por vía oral.

- 50 Otras complicaciones del procedimiento incluyen: hipotensión; posible exposición a hemoderivados, con riesgo de reacciones a la transfusión o enfermedades transmitidas por la transfusión, supresión del sistema inmunitario del paciente y hemorragia o hematoma por la colocación de la aguja.

- 55 Además, las instalaciones que proporcionan plasmaféresis son limitadas y el procedimiento es muy costoso.

- Una alternativa a la plasmaféresis es la inmunoglobulina intravenosa (IVIG), que es un producto sanguíneo que contiene IgG policlonal combinada extraída del plasma de más de mil donantes de sangre. La terapia se administra por vía intravenosa y dura entre 2 semanas y 3 meses.

- 60 Las complicaciones del tratamiento con IVIG incluyen dolores de cabeza, dermatitis, infección vírica por contaminación del producto terapéutico, por ejemplo, VIH o hepatitis, edema pulmonar, reacciones alérgicas, insuficiencia renal aguda, trombosis venosa y meningitis aséptica.

- 65 Por lo tanto, existe una importante necesidad no satisfecha de terapias para los trastornos autoinmunitarios que son menos invasivos y que exponen a los pacientes a menos complicaciones médicas.

Por lo tanto, existe una importante necesidad no satisfecha de terapias para las enfermedades inmunitarias y/o trastornos autoinmunitarios que son menos invasivos y que exponen a los pacientes a menos complicaciones médicas.

5 Por consiguiente, los agentes que inhiben o reducen la unión de IgG a FcRn pueden ser útiles en el tratamiento o prevención de dichas enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias. Los anticuerpos anti-FcRn se han descrito previamente en los documentos WO2009/131702, WO2007/087289, WO2006/118772 y Christianson et al., ("Monoclonal antibodies directed against human FcRn and their applications", MABS, (2012), vol. 4, n.º 2).

10 Sin embargo, sigue existiendo la necesidad de mejorar los anticuerpos anti-FcRn.

Sumario de la divulgación

15 Por lo tanto, en un aspecto de la invención se proporciona un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a FcRn del mismo que tiene una cadena pesada que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 29 y una cadena ligera que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 15. Los anticuerpos de la invención inhiben la unión de IgG a FcRn y se piensa que son útiles para reducir una o más funciones biológicas de FcRn, incluida la reducción de la semivida de los anticuerpos circulantes. Esto puede ser beneficioso porque le permite al paciente eliminar más rápidamente los anticuerpos, tales como los autoanticuerpos.

20 Es importante destacar que los anticuerpos de la presente invención son capaces de unirse a FcRn humano a pH 6 y pH 7,4 con afinidad de unión comparable y alta. De manera ventajosa, por lo tanto, los anticuerpos son capaces de continuar uniéndose a FcRn incluso dentro del endosoma, maximizando así la inhibición de la unión de FcRn a IgG, véase la Figura 10 para ver una ilustración del mecanismo.

25 Los anticuerpos o fragmentos de unión de acuerdo con la presente invención comprenden secuencias de CDR de las SEQ ID NO: 1 a 6, en donde la CDR H1 es la SEQ ID NO: 1, CDR H2 es la SEQ ID NO: 2, CDR H3 es la SEQ ID NO: 3, CDR L1 es la SEQ ID NO: 4, CDR L2 es la SEQ ID NO: 5 y CDR L3 es la SEQ ID NO: 6.

30 La invención también se extiende a un polinucleótido, tal como ADN, que codifica un anticuerpo o fragmento como se describe en el presente documento.

También se proporciona una célula hospedadora que comprende dicho polinucleótido.

35 Los métodos para expresar un anticuerpo o fragmento se proporcionan en el presente documento, ya que son métodos para conjugar un anticuerpo o fragmento con un polímero, tal como PEG.

La presente invención también se refiere a composiciones farmacéuticas que comprenden dichos anticuerpos y fragmentos.

40 La presente invención también se extiende a un anticuerpo, fragmento o composición de acuerdo con la presente invención para su uso en tratamiento, particularmente en el tratamiento de un trastorno inmunitario y/o autoinmunitario.

45 Por lo tanto, la presente divulgación proporciona anticuerpos, fragmentos de los mismos y métodos para la eliminación de IgG patógena, que se logra mediante la aceleración del mecanismo natural del cuerpo para catabolizar IgG.

50 En esencia, los anticuerpos y fragmentos de acuerdo con la divulgación inhiben el sistema que recicla la IgG en el cuerpo.

Es probable que la terapia actual proporcione un reemplazo o un suplemento para ciertas enfermedades donde la plasmaféresis es una terapia o terapia de IVIg, que es ventajosa para los pacientes.

55 Breve descripción de las Figuras

La **Figura 1** muestra ciertas secuencias de aminoácidos y polinucleótidos.

La **Figura 2** muestra alineaciones de ciertas secuencias.

60 La **Figura 3** muestra una comparación de la unión en MDCK II humana para un fragmento Fab' de acuerdo con la presente divulgación y una versión PEGilada del mismo

La **Figura 4** muestra un fragmento Fab' de acuerdo con la presente divulgación y una versión PEGilada del mismo que inhibe el reciclado de IgG en células MDCK II

La **Figura 5** muestra un fragmento Fab' PEGilado de acuerdo con la presente divulgación que inhibe la transcitosis de IgG de origen apical a basolateral en células MDCK II

65 La **Figura 6** muestra una comparación de la unión de MDCK II de macaco para un fragmento Fab' de acuerdo con la presente divulgación y una versión PEGilada del mismo

- La **Figura 7** muestra un fragmento Fab' PEGilado de acuerdo con la presente divulgación que inhibe el reciclado de IgG en células MDCK II para versiones de seres humanos y macacos de las mismas
- La **Figura 8** muestra el efecto de una dosis única de una molécula Fab' PEGilada de acuerdo con la divulgación sobre los niveles de IgG en plasma en macacos
- 5 La **Figura 9** muestra el efecto de cuatro dosis semanales de una molécula Fab' PEGilada de acuerdo con la divulgación sobre los niveles de IgG en plasma
- La **Figura 10** muestra una representación esquemática de la función de reciclado de anticuerpos de FcRn inhibida mediante una proteína de inhibición
- La **Figura 11** muestra el análisis de inhibición de IgG humana basada en citometría de flujo utilizando anticuerpos IgG gamma 1 purificados
- 10 La **Figura 12** muestra las dosis IV de Fab'PEG únicas/intermitentes en la farmacodinámica de IgG normal en macacos de 20 mg/kg los días 1 y 67
- La **Figura 13** muestra las dosis IV de Fab'PEG: repetidas en la farmacodinámica de IgG normal en macacos de 4 x 20 o 100 mg/kg por semana
- 15 La **Figura 14** muestra las dosis IV de Fab'PEG únicas/intermitentes en la farmacodinámica de IgG normal en macacos a -20 mg/kg y 100 mg/kg los días 1 y 67
- La **Figura 15** muestra los niveles de IgG en plasma en 4 macacos después de 2 dosis IV de 20 mg/kg de Fab'PEG de 1519.g57
- La **Figura 16** muestra los niveles de IgG en plasma en 4 macacos que reciben 10 dosis IV de 20 mg/kg de Fab'PEG de 1519.g57, una cada 3 días
- 20 La **Figura 17** muestra el efecto de dos dosis IV de 30 mg/kg de IgG4P de 1519.g57 sobre la IgG en plasma endógena en macacos
- La **Figura 18** muestra el efecto de 30 mg/kg si van seguidas de 41 dosis diarias de 5 mg/kg de IgG4P de 1519.g57 en IgG en plasma en macacos
- 25 La **Figura 19** muestra el resultado de la dosificación diaria con vehículo en la IgG plasmática en macacos
- La **Figura 20** muestra el aclaramiento aumentado de hIgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con Fab'PEG de CA170_01519.g57 o PBS IV
- La **Figura 21** muestra el aclaramiento aumentado de hIgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con IgG1 o IgG4 de CA170_01519.g57 o PBS IV
- 30 La **Figura 22** muestra el aclaramiento aumentado de hIgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con Fab'- albúmina de suero humano de CA170_01519.g57 o PBS IV
- La **Figura 23** muestra el aclaramiento aumentado de hIgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con FabFv de CA170_01519.g57 o PBS IV
- La **Figura 24** muestra el aclaramiento aumentado de hIgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con Fab o Fab'PEG de CA170_01519.g57 o PBS IV
- 35 La **Figura 25** muestra una proteína de fusión de anticuerpos biespecíficos de la presente invención, denominada Fab-dsFv.

Detalles de la divulgación

40 FcRn, como se emplea en el presente documento, se refiere al complejo no covalente entre la cadena alfa del receptor de IgG humano, también conocido como el receptor Fc neonatal, cuya secuencia de aminoácidos se encuentra en UniProt con el número P55899 junto con $\beta 2$ microglobulina ($\beta 2M$), cuya secuencia de aminoácidos se encuentra en UniProt con el número P61769.

45 La molécula de anticuerpo como se emplea en el presente documento se refiere a un anticuerpo o fragmento de unión del mismo.

50 El término "anticuerpo" como se usa en el presente documento generalmente se refiere a anticuerpos inalterados (completos), es decir, que comprenden los elementos de dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras. El anticuerpo puede comprender además dominios de unión adicionales, por ejemplo, según la molécula DVD-Ig como se describe en el documento WO 2007/024715, o el denominado (FabFv)₂Fc descrito en el documento WO2011/030107. Por lo tanto, el anticuerpo tal como se emplea en el presente documento incluye anticuerpos de longitud completa bi, tri o tetravalentes.

55 Los fragmentos de unión de los anticuerpos incluyen anticuerpos de cadena única (es decir, una cadena pesada y una cadena ligera de longitud completa); Fab, Fab modificado, Fab', Fab' modificado, F(ab')₂, Fv, Fab-Fv, Fab-dsFv, anticuerpos de dominio único (por ejemplo, VH o VL o VHH), scFv, anticuerpos bi, tri o tetravalentes, Bis-scFv, diacuerpos, tricuerpos, triacuerpos, tetracuerpos y fragmentos de unión a epítipo de cualquiera de los anteriores (véase, por ejemplo, Holliger y Hudson, 2005, Nature Biotech. 23 (9):1126-1136; Adair y Lawson, 2005, Drug Design Reviews - Online 2(3), 209-217). Los métodos para crear y fabricar estos fragmentos de anticuerpo son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Verma et al., 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181). El formato Fab-Fv se desveló por primera vez en el documento WO2009/040562 y las versiones estabilizadas con disulfuro del mismo, el Fab-dsFv se desveló por primera vez en el documento WO2010/035012, véase también la

60 Figura 25 en el presente documento. Otros fragmentos de anticuerpo para su uso en la presente invención incluyen los fragmentos Fab y Fab' descritos en las solicitudes de patente internacional WO2005/003169, WO2005/003170 y

65

WO2005/003171. Los anticuerpos multivalentes pueden comprender múltiples especificidades, por ejemplo, biespecífico o puede ser monoespecífico (véase, por ejemplo, los documentos WO 92/22583 y WO05/113605). Un ejemplo de este último es un Tri-Fab (o TFM) como se describe en el documento WO92/22583.

- 5 Una molécula Fab' típica comprende un par de cadenas pesadas y ligeras en las que la cadena pesada comprende una región variable V_H , un dominio constante C_H1 y una región bisagra natural o modificada y la cadena ligera comprende una región variable V_L y un dominio constante C_L .

- 10 En una realización, se proporciona un dímero de un Fab' de acuerdo con la presente divulgación para crear un $F(ab')_2$, por ejemplo, la dimerización puede ser a través de la bisagra.

- 15 En una realización, el anticuerpo o fragmento de unión del mismo comprende un dominio de unión. Un dominio de unión generalmente comprenderá 6 CDR, tres de una cadena pesada y tres de una cadena ligera. En una realización, las CDR están en un marco y juntas forman una región variable. Por lo tanto, en una realización, un anticuerpo o fragmento de unión comprende un dominio de unión específico para antígeno que comprende una región variable de cadena ligera y una región variable de cadena pesada.

- 20 Se apreciará que una o más sustituciones, adiciones y/o eliminaciones de aminoácidos (por ejemplo, 1, 2, 3 o 4) pueden hacerse a las CDR u otras secuencias (por ejemplo, dominios variables) proporcionadas por la presente divulgación sin alterar significativamente la capacidad del anticuerpo para unirse a FcRn. Un experto en la técnica puede probar fácilmente el efecto de cualquier sustitución, adición y/o eliminación de aminoácidos, por ejemplo, mediante la utilización de los métodos descritos en el presente documento, en particular en los Ejemplos, para determinar FcRn.

- 25 Se pueden realizar una o más (por ejemplo 1, 2, 3 o 4) sustituciones, adiciones y/o deleciones de aminoácidos en la región marco empleada en el anticuerpo o fragmento proporcionado por la presente divulgación y en donde se conserva o aumenta la afinidad de unión a FcRn.

- 30 Los restos en los dominios variables de anticuerpos se numeran convencionalmente de acuerdo con un sistema ideado por Kabat *et al.* Este sistema se describe en Kabat *et al.*, 1987, en *Sequences of Proteins of Immunological Interest*, US Department of Health and Human Services, NIH, EE.UU. (en adelante "Kabat *et al.* (*supra*)"). Este sistema de numeración se utiliza en la presente descripción detallada, salvo que se indique lo contrario.

- 35 Las designaciones de restos de Kabat no siempre se corresponden directamente con la numeración lineal de los restos de aminoácidos. La secuencia de aminoácidos lineal real puede contener menos aminoácidos o aminoácidos adicionales que en la numeración de Kabat estricta correspondiente a un acortamiento de, o inserción en, un componente estructural, ya sea un marco o una región determinante de complementariedad (CDR), de la estructura del dominio variable básico. La numeración correcta de Kabat de los restos puede determinarse para un anticuerpo dado mediante alineación de los restos de homología en la secuencia del anticuerpo con una secuencia numerada de Kabat "convencional".

- 45 Las CDR del dominio variable de cadena pesada están ubicadas en los restos 31-35 (CDR-H1), los restos 50-65 (CDR-H2) y los restos 95-102 (CDR-H3) de acuerdo con el sistema de numeración de Kabat. Sin embargo, de acuerdo con Chothia (Chothia, C. y Lesk, A.M. J. Mol. Biol., 196, 901-917 (1987)), el bucle equivalente a CDR-H1 se extiende desde el resto 26 hasta el resto 32. Por lo tanto, a menos que se indique lo contrario, "CDR-H1", tal como se emplea en el presente documento, pretende referirse a los restos 26 a 35, como se describe en una combinación del sistema de numeración de Kabat y la definición del bucle topológico de Chothia.

- 50 Las CDR del dominio variable de cadena ligera están ubicadas en los restos 24-34 (CDR-L1), los restos 50-56 (CDR-L2) y los restos 89-97 (CDR-L3) de acuerdo con el sistema de numeración de Kabat.

- 55 Los anticuerpos y fragmentos de la presente divulgación inhiben FcRn y, por lo tanto, pueden evitar que funcione en el reciclado de IgG. La inhibición, tal como se emplea en el presente documento, se refiere a una inhibición física, tal como ocluir el receptor, pero también incluirá dónde se unen el anticuerpo o fragmentos a un epítopo que causa, por ejemplo, un cambio conformacional que significa que ya no se une el ligando natural al receptor. Las moléculas de anticuerpos de la presente invención se unen a FcRn y, por lo tanto, disminuyen o evitan (por ejemplo, inhiben) la unión de FcRn a una región constante de IgG.

- 60 En una realización, el anticuerpo o fragmento del mismo se une a FcRn competitivamente con respecto a IgG.

- En un ejemplo, el anticuerpo o fragmento de unión del mismo funciona como un inhibidor competitivo de la unión de FcRn humano a IgG humana. En un ejemplo, el anticuerpo o fragmento de unión del mismo se une al sitio de unión de IgG en FcRn. En un ejemplo, el anticuerpo o fragmento de unión del mismo no se une a $\beta 2M$.

- 65 Los anticuerpos para su uso en la presente divulgación pueden obtenerse usando cualquier método adecuado conocido en la técnica. Las proteínas de fusión que incluyen el polipéptido/proteína FcRn, células (recombinantes o

naturales) que expresan el polipéptido (tal como los linfocitos T activados) se pueden usar para producir anticuerpos que reconocen específicamente FcRn. El polipéptido puede ser el polipéptido "maduro" o un fragmento o derivado biológicamente activo del mismo. La proteína humana está registrada en Swiss-Prot con el número P55899. El dominio extracelular de la cadena alfa de FcRn humano se proporciona en la SEQ ID NO: 94. La secuencia de β 2M se proporciona en la SEQ ID NO: 95.

En una realización, el antígeno es una forma mutante de FcRn que está diseñada para presentar FcRn en la superficie de una célula, de manera que hay poco o ningún procesamiento dinámico donde FcRn se internaliza en la célula, por ejemplo, esto se puede lograr mediante una mutación en la cola citoplásmica de la cadena alfa de FcRn, en donde la dileucina se muta a dialanina como se describe en Ober et al., 2001 *Int. Immunol.* 13, 1551-1559.

Los polipéptidos, para su uso para inmunizar un hospedador, pueden prepararse mediante procesos bien conocidos en la técnica a partir de células hospedadoras modificadas por ingeniería genética que comprenden sistemas de expresión o pueden recuperarse de fuentes biológicas naturales. En la presente solicitud, el término "polipéptido" incluye péptidos, polipéptidos y proteínas. Estos se usan indistintamente a menos que se especifique lo contrario. El polipéptido FcRn puede ser, en algunos casos, parte de una proteína más grande, como una proteína de fusión, por ejemplo, fusionada con un marcador de afinidad o similar.

Los anticuerpos generados contra el polipéptido FcRn pueden obtenerse, cuando sea necesaria la inmunización de un animal, mediante la administración de los polipéptidos a un animal, preferentemente un animal no humano, usando protocolos bien conocidos y rutinarios, véase, por ejemplo, *Handbook of Experimental Immunology*, D. M. Weir (ed.), vol. 4, Blackwell Scientific Publishers, Oxford, Inglaterra, 1986). Muchos animales de sangre caliente, tales como conejos, ratones, ratas, ovejas, vacas, camellos o cerdos pueden ser inmunizados. Sin embargo, ratones, conejos, cerdos y ratas son generalmente los más adecuados.

Los anticuerpos monoclonales se pueden preparar mediante cualquier método conocido en la técnica, tal como la técnica de hibridoma (Kohler & Milstein, 1975, *Nature*, 256:495-497), la técnica de trioma, la técnica de hibridoma de linfocitos B humanos (Kozbor et al., 1983, *Immunology Today*, 4:72) y la técnica de hibridoma EBV (Cole et al., *Monoclonal Antibodies and Cancer Therapy*, págs. 77-96, Alan R Liss, Inc., 1985).

Los anticuerpos para su uso en la invención también pueden generarse usando métodos de anticuerpos de linfocitos individuales mediante la clonación y expresión de ADNc de región variable de inmunoglobulinas generados a partir de linfocitos individuales seleccionados para la producción de anticuerpos específicos mediante, por ejemplo, los métodos descritos por Babcook, J. et al., 1996, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93(15):7843-78481; el documento WO92/02551; el documento WO2004/051268 y la solicitud de patente internacional número WO2004/106377.

La selección de anticuerpos se puede realizar utilizando ensayos para medir la unión a FcRn humano y/o ensayos para medir la capacidad de inhibir la unión de IgG al receptor. Un ejemplo de un ensayo de unión es un ELISA, en particular, que utiliza una proteína de fusión de FcRn humano y Fc humano, que se inmoviliza en placas, y que emplea un anticuerpo secundario para detectar el anticuerpo anti-FcRn unido a la proteína de fusión. Los ejemplos de ensayos antagonistas y de inhibición adecuados se describen en los Ejemplos en el presente documento.

Los anticuerpos humanizados (que incluyen anticuerpos injertados con CDR) son moléculas de anticuerpos que tienen una o más regiones determinantes de complementariedad (CDR) de una especie no humana y una región marco de una molécula de inmunoglobulina humana (véase, por ejemplo, los documentos US 5.585.089; WO91/09967). Se apreciará que solo puede ser necesario transferir la especificidad que determina los restos de las CDR en lugar de la CDR completa (véase, por ejemplo, Kashmiri et al., 2005, *Methods*, 36, 25-34). Los anticuerpos humanizados pueden opcionalmente comprender además uno o más restos marco procedentes de la especie no humana de la que procedían las CDR. Estos últimos se denominan a menudo restos de donantes.

Específico, tal como se emplea en el presente documento, pretende referirse a un anticuerpo que solo reconoce el antígeno para el que es específico o a un anticuerpo que tiene una afinidad de unión significativamente mayor al antígeno para el que es específico en comparación con la unión a antígenos para los que no es específico, por ejemplo, al menos 5, 6, 7, 8, 9, 10 veces mayor afinidad de unión. La afinidad de unión puede medirse mediante técnicas tales como BIAcore como se describe en el presente documento a continuación. En un ejemplo, el anticuerpo de la presente invención no se une a la β 2 microglobulina (β 2M). En un ejemplo, el anticuerpo de la presente invención se une a FcRn de macaco. En un ejemplo, el anticuerpo de la presente invención no se une a FcRn de rata o ratón.

Las secuencias de aminoácidos y las secuencias de polinucleótidos de ciertos anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación se proporcionan en las Figuras.

En una realización, el anticuerpo o fragmentos de acuerdo con la divulgación están humanizados.

Tal como se utiliza en el presente documento, la expresión "molécula de anticuerpo humanizado" se refiere a una molécula de anticuerpo en la que la cadena pesada y/o ligera contiene una o más CDR (incluyendo, si se desea, una

o más CDR modificadas) de un anticuerpo donante (por ejemplo, un anticuerpo no humano tal como un anticuerpo monoclonal murino) injertado en un marco de región variable de cadena pesada y/o ligera de un anticuerpo aceptor (por ejemplo, un anticuerpo humano). Para una revisión, véase Vaughan et al, Nature Biotechnology, 16, 535-539, 1998. En una realización, en lugar de que se transfiera la CDR completa, solo uno o más de los restos que determinan la especificidad de una cualquiera de las CDR descritas anteriormente en el presente documento se transfieren al marco del anticuerpo humano (véase, por ejemplo, Kashmiri et al., 2005, Methods, 36, 25-34). En una realización, solo los restos que determinan la especificidad de una o más de las CDR descritas en el presente documento anteriormente se transfieren al marco del anticuerpo humano. En otra realización, solo los restos que determinan la especificidad de cada una de las CDR descritas en el presente documento anteriormente se transfieren al marco del anticuerpo humano.

Cuando se injertan las CDR o los restos que determinan la especificidad, se puede usar cualquier secuencia marco de la región variable aceptora apropiada con respecto a la clase/tipo del anticuerpo donante del que proceden las CDR, incluidas las regiones marco de ratón, primate y ser humano.

Adecuadamente, el anticuerpo humanizado de acuerdo con la presente invención tiene un dominio variable que comprende regiones marco aceptoras humanas, así como una o más de las CDR proporcionadas específicamente en el presente documento. Por lo tanto, en una realización se proporciona un anticuerpo humanizado de inhibición que se une a FcRn humano en el que el dominio variable comprende regiones marco de humanas y CDR de donante no humano.

Ejemplos de marcos humanos que se pueden usar en la presente divulgación son KOL, NEWM, REI, EU, TUR, TEI, LAY y POM (Kabat et al., supra). Por ejemplo, KOL y NEWM se pueden usar para la cadena pesada, REI se puede usar para la cadena ligera y EU, LAY y POM se pueden usar tanto para la cadena pesada como para la cadena ligera. Como alternativa, pueden usarse secuencias de la línea germinal humana; estas están disponibles en: <http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>.

En un anticuerpo humanizado de la presente divulgación, las cadenas pesada y ligera aceptoras no necesitan necesariamente proceder del mismo anticuerpo y pueden, si se desea, comprender cadenas compuestas que tienen regiones marco procedentes de diferentes cadenas.

Dicha región marco adecuada para la cadena pesada del anticuerpo humanizado de la presente invención procede de la secuencia 1-3 3-07 del subgrupo VH3 humano junto con JH4 (SEQ ID NO: 56).

Por consiguiente, en un ejemplo se proporciona un anticuerpo humanizado que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 1 para CDR-H1, la secuencia dada en la SEQ ID NO: 2 para CDR-H2 y la secuencia dada en la SEQ ID NO: 3 para CDRH3, en el que la región marco de la cadena pesada procede de la secuencia 1-3 3-07 del subgrupo VH3 humano junto con JH4.

La secuencia de JH4 humano es como sigue: (YFDY)WGQGTLVTVS (SEQ ID NO: 70). El motivo YFDY es parte de CDR-H3 y no es parte del marco 4 (Ravetch, JV. et al., 1981, Cell, 27, 583-591).

El dominio variable de cadena pesada del anticuerpo comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 29.

Una región marco adecuada para la cadena ligera del anticuerpo humanizado de la presente invención procede de la secuencia 2-1-(1) A30 del subgrupo VK1 de la línea germinal humana junto con JK2 (SEQ ID NO: 54).

Por consiguiente, en un ejemplo se proporciona un anticuerpo humanizado que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 4 para CDR-L1, la secuencia dada en la SEQ ID NO: 5 para CDR-L2 y la secuencia dada en la SEQ ID NO: 6 para CDRL3, en el que la región marco de la cadena ligera procede de la secuencia 2-1-(1) A30 del subgrupo VK1 humano junto con JK2.

La secuencia de JK2 es como sigue: (YT)FGQGTLKLEIK (SEQ ID NO: 71). El motivo YT es parte de CDR-L3 y no es parte del marco 4 (Hieter, PA., et al., 1982, J. Biol. Chem., 257, 1516-1522).

El dominio variable de cadena ligera del anticuerpo comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 15.

En un anticuerpo humanizado de la presente invención, las regiones marco no necesitan tener exactamente la misma secuencia que las del anticuerpo aceptor. Por ejemplo, los restos inusuales se pueden cambiar a restos de origen frecuentes para esa clase o tipo de cadena aceptora. Como alternativa, los restos seleccionados en las regiones marco aceptoras pueden cambiarse de manera que correspondan al resto encontrado en la misma posición en el anticuerpo donante (véase Reichmann et al., 1998, Nature, 332, 323-324). Dichos cambios se deben mantener al mínimo necesario para recuperar la afinidad del anticuerpo donante. En el documento WO91/09967 se expone un protocolo para seleccionar restos en las regiones marco aceptoras que puede ser necesario cambiar.

Por lo tanto, en una realización, 1, 2, 3, 4 o 5 restos en el marco se reemplazan con un resto de aminoácido alternativo.

Por consiguiente, en un ejemplo se proporciona un anticuerpo humanizado, en el que al menos los restos en cada una de las posiciones 3, 24, 76, 93 y 94 del dominio variable de la cadena pesada (numeración de Kabat) son restos donantes, véase, por ejemplo, la secuencia dada en la SEQ ID N°: 29.

En una realización, el resto 3 del dominio variable de cadena pesada se reemplaza con un aminoácido alternativo, por ejemplo, glutamina.

En una realización, el resto 24 del dominio variable de cadena pesada se reemplaza con un aminoácido alternativo, por ejemplo, alanina.

En una realización, el resto 76 del dominio variable de cadena pesada se reemplaza con un aminoácido alternativo, por ejemplo, asparagina.

En una realización, el resto 93 de la cadena pesada se reemplaza con un aminoácido alternativo, por ejemplo, alanina.

En una realización, el resto 94 de la cadena pesada se reemplaza con un aminoácido alternativo, por ejemplo, arginina.

En una realización, el resto 3 es glutamina, el resto 24 es alanina, el resto 76 es asparagina, el resto 93 es alanina y el resto 94 es arginina en la región variable de la cadena pesada humanizada de acuerdo con la presente divulgación.

Por consiguiente, en un ejemplo se proporciona un anticuerpo humanizado, en el que al menos los restos en cada una de las posiciones 36, 37 y 58 del dominio variable de la cadena ligera (numeración de Kabat) son restos de donante, véase, por ejemplo, la secuencia dada en la SEQ ID N°: 15.

En una realización, el resto 36 del dominio variable de cadena ligera se reemplaza con un aminoácido alternativo, por ejemplo, tirosina.

En una realización, el resto 37 del dominio variable de cadena ligera se reemplaza con un aminoácido alternativo, por ejemplo, glutamina.

En una realización, el resto 58 del dominio variable de cadena ligera se reemplaza con un aminoácido alternativo, por ejemplo, valina.

En una realización, el resto 36 es tirosina, el resto 37 es glutamina y el resto 58 es valina, en la región variable de la cadena pesada humanizada de acuerdo con la presente divulgación.

En una realización, la divulgación proporciona una secuencia de anticuerpo que es similar o idéntica al 80 % de una secuencia desvelada en el presente documento, por ejemplo, el 85 %, el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % sobre una parte o la totalidad de la secuencia en cuestión, por ejemplo, una secuencia de dominio variable, una secuencia CDR o una secuencia de dominio variable, excluyendo las CDR. En una realización, la secuencia en cuestión es la SEQ ID NO: 15. En una realización, la secuencia en cuestión es la SEQ ID NO: 29.

En una realización, la presente divulgación proporciona una molécula de anticuerpo que se une a FcRn humano que comprende una cadena pesada, en donde el dominio variable de la cadena pesada comprende una secuencia que tiene al menos el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad o similitud con la secuencia dada en la SEQ ID NO: 29.

En una realización, la presente divulgación proporciona una molécula de anticuerpo que se une a FcRn humano que comprende una cadena ligera, en donde el dominio variable de la cadena ligera comprende una secuencia que tiene al menos el 80 %, el 85 %, el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % de identidad o similitud con la secuencia dada en la SEQ ID NO: 15.

En una realización, la presente divulgación proporciona una molécula de anticuerpo que se une a FcRn humano en donde el anticuerpo tiene un dominio variable de cadena pesada que es al menos el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % similar o idéntico a la secuencia dada en la SEQ ID NO: 29 pero en donde la molécula de anticuerpo tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 1 para CDR-H1, la secuencia dada en la SEQ ID NO: 2 para CDR-H2 y la secuencia dada en la SEQ ID NO: 3 para CDR-H3.

En una realización, la presente divulgación proporciona una molécula de anticuerpo que se une a FcRn humano en donde el anticuerpo tiene un dominio variable de cadena ligera que es al menos el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % similar o idéntico a la secuencia dada en la SEQ ID NO: 15 pero en donde la molécula de anticuerpo tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 4 para CDR-L1, la secuencia dada en la SEQ ID NO: 5 para CDR-L2 y la secuencia dada en la SEQ ID NO: 6 para CDR-L3.

En una realización, la presente divulgación proporciona una molécula de anticuerpo que se une a FcRn humano en donde el anticuerpo tiene un dominio variable de cadena pesada que es al menos el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % similar o idéntico a la secuencia dada en la SEQ ID NO: 29 y un dominio variable de cadena ligera que es al menos el 90 %, el 91 %, el 92 %, el 93 %, el 94 %, el 95 %, el 96 %, el 97 %, el 98 % o el 99 % similar o idéntico a la secuencia dada en la SEQ ID NO: 15 pero en donde la molécula de anticuerpo tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 1 para CDR-H1, la secuencia dada en la SEQ ID NO: 2 para CDR-H2, la secuencia dada en la SEQ ID NO: 3 para CDR-H3, la secuencia dada en la SEQ ID NO: 4 para CDR-L1, la secuencia dada en la SEQ ID NO: 5 para CDR-L2 y la secuencia dada en la SEQ ID NO: 6 para CDR-L3.

"Identidad", como se utiliza en el presente documento, indica que en cualquier posición particular en las secuencias alineadas, el resto de aminoácido es idéntico entre las secuencias. "Similitud", como se utiliza en el presente documento, indica que, en cualquier posición particular en las secuencias alineadas, el resto de aminoácido es de un tipo similar entre las secuencias. Por ejemplo, la leucina puede sustituirse por isoleucina o valina. Otros aminoácidos que a menudo se pueden sustituir entre sí incluyen, pero sin limitación:

- fenilalanina, tirosina y triptófano (aminoácidos que tienen cadenas laterales aromáticas);
- lisina, arginina e histidina (aminoácidos que tienen cadenas laterales básicas);
- aspartato y glutamato (aminoácidos que tienen cadenas laterales ácidas);
- asparagina y glutamina (aminoácidos que tienen cadenas laterales de amida); y
- cisteína y metionina (aminoácidos que tienen cadenas laterales que contienen azufre). Los grados de identidad y similitud se pueden calcular fácilmente (Computational Molecular Biology, Lesk, A.M., ed., Oxford University Press, Nueva York, 1988; Biocomputing. Informatics and Genome Projects, Smith, D.W., ed., Academic Press, Nueva York, 1993; Computer Analysis of Sequence Data, Parte 1, Griffin, A.M. y Griffin, H.G., eds., Humana Press, Nueva Jersey, 1994; Sequence Analysis in Molecular Biology, von Heinje, G., Academic Press, 1987, Sequence Analysis Primer, Gribskov, M. y Devereux, J., eds., M Stockton Press, Nueva York, 1991, el software BLAST™ disponible de NCBI (Altschul, S.F. et al., 1990, J. Mol. Biol. 215:403-410; Gish, W. & States, D.J. 1993, Nature Genet. 3:266-272. Madden, T.L. et al., 1996, Meth. Enzymol. 266:131-141; Altschul, S.F. et al., 1997, Nucleic Acids Res. 25:3389-3402; Zhang, J. & Madden, T.L. 1997, Genome Res. 7:649-656,).

Las moléculas de anticuerpo de la presente invención pueden comprender una molécula de anticuerpo completa que tiene cadenas pesadas y ligeras de longitud completa o un fragmento de las mismas y puede ser, pero sin limitación, Fab, Fab modificado, Fab', Fab' modificado, F(ab')₂, Fv, anticuerpos de dominio único (por ejemplo, VH o VL o VHH), scFv, anticuerpos bi, tri o tetravalentes, Bis-scFv, diacuerpos, triacuerpos, tetracuerpos y fragmentos de unión a epítipo de cualquiera de los anteriores (véase, por ejemplo, Holliger y Hudson, 2005, Nature Biotech. 23 (9):1126-1136; Adair y Lawson, 2005, Drug Design Reviews - Online 2(3), 209-217). Los métodos para crear y fabricar estos fragmentos de anticuerpo son bien conocidos en la técnica (véase, por ejemplo, Verma et al., 1998, Journal of Immunological Methods, 216, 165-181). Otros fragmentos de anticuerpo para su uso en la presente invención incluyen los fragmentos Fab y Fab' descritos en las solicitudes de patente internacional WO2005/003169, WO2005/003170 y WO2005/003171. Los anticuerpos multivalentes pueden comprender múltiples especificidades, por ejemplo, biespecífico o puede ser monoespecífico (véase, por ejemplo, los documentos WO 92/22853, WO05/113605, WO2009/040562 y WO2010/035012).

En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención es un fragmento Fab' de anticuerpo que comprende las regiones variables mostradas en las SEQ ID NO: 15 y 29, por ejemplo, para la cadena ligera y pesada respectivamente. En una realización, la molécula de anticuerpo tiene una cadena ligera que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 22 y una cadena pesada que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 36.

En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención es un anticuerpo IgG1 de longitud completa que comprende las regiones variables mostradas en las SEQ ID NO: 15 y 29, por ejemplo, para la cadena ligera y pesada respectivamente. En una realización, la molécula de anticuerpo tiene una cadena ligera que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 22 y una cadena pesada que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 72.

En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención es un formato de IgG4 de longitud variable que comprende las regiones variables mostradas en las SEQ ID NO: 15 y 29 para la cadena ligera y pesada respectivamente. En una realización, la molécula de anticuerpo tiene una cadena ligera que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 22 y una cadena pesada que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 87.

En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención es un formato de IgG4P de longitud variable que comprende las regiones variables mostradas en las SEQ ID NO: 15 y 29 para la cadena ligera y pesada respectivamente. En una realización, la molécula de anticuerpo tiene una cadena ligera que comprende la secuencia

dada en la SEQ ID NO: 22 y una cadena pesada que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 43.

IgG4P, tal como se emplea en el presente documento, es una mutación del isotipo IgG4 de tipo silvestre donde el aminoácido 241 se reemplaza por la prolina, véase, por ejemplo, donde la serina en la posición 241 se cambió a prolina como se describe en Angal et al., Molecular Immunology, 1993, 30 (1), 105-108.

En una realización, el anticuerpo de acuerdo con la presente divulgación se proporciona como una proteína de fusión de anticuerpo de unión a FcRn que comprende una fracción de inmunoglobulina, por ejemplo, un fragmento Fab o Fab', y uno o dos anticuerpos de dominio único (dAc) unidos directa o indirectamente al mismo, por ejemplo, como se describe en los documentos WO2009/040562, WO2010035012, WO2011/030107, WO2011/061492 y WO2011/086091.

En una realización, la proteína de fusión comprende dos dominios de anticuerpo, por ejemplo, como un emparejamiento de variable de cadena pesada (VH) y variable de cadena ligera (VL), opcionalmente unidos por un enlace disulfuro.

En una realización, el elemento Fab o Fab' de la proteína de fusión tiene la misma o similar especificidad al anticuerpo o anticuerpos de dominio único. En una realización, el Fab o Fab' tiene una especificidad diferente al anticuerpo o anticuerpos de dominio único, es decir, la proteína de fusión es multivalente. En una realización, una proteína de fusión multivalente de acuerdo con la presente divulgación tiene un sitio de unión a albúmina, por ejemplo, un par VH/VL en el mismo proporciona un sitio de unión a albúmina. En una de dichas realizaciones, la cadena pesada comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 50 y la cadena ligera comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 46 o la SEQ ID NO: 78. Este formato Fab-dsFv se ilustra en la Figura 25 en el presente documento.

En una realización, el Fab o Fab' de acuerdo con la presente invención se conjuga con una molécula PEG o albúmina de suero humano.

CA170_01519 g57 y 1519 y 1519.g57 se emplean de manera intercambiable en el presente documento y se usan para referirse a un par específico de regiones variables de anticuerpos que se pueden usar en varios formatos diferentes. Estas regiones variables son la secuencia de la cadena pesada dada en la SEQ ID NO: 29 y la secuencia de la cadena ligera dada en la SEQ ID NO: 15 (Figura 1).

Los dominios de región constante de la molécula de anticuerpo de la presente invención, si están presentes, pueden seleccionarse teniendo en cuenta la función propuesta de la molécula de anticuerpo, y en particular las funciones efectoras que pueden ser necesarias. Por ejemplo, los dominios de región constante pueden ser dominios de IgA, IgD, IgE, IgG o IgM humanas. En particular, se pueden usar dominios de región constante de IgG humana, especialmente de los isotipos IgG1 e IgG3 cuando la molécula de anticuerpo está destinada a usos terapéuticos y se requieren funciones efectoras de anticuerpos. Como alternativa, los isotipos IgG2 e IgG4 pueden usarse cuando la molécula de anticuerpo está destinada a fines terapéuticos y no se requieren funciones efectoras de anticuerpos. Se apreciará que también se pueden usar variantes de secuencia de estos dominios de región constante. Por ejemplo, las moléculas de IgG4 en las que la serina en la posición 241 se ha cambiado a prolina como se describe en Angal et al., Molecular Immunology, 1993, 30 (1), 105-108 pueden usarse. Un experto en la técnica también entenderá que los anticuerpos pueden sufrir una variedad de modificaciones postraduccionales. El tipo y el alcance de estas modificaciones a menudo dependen de la línea de la célula hospedadora utilizada para expresar el anticuerpo, así como de las condiciones de cultivo. Dichas modificaciones pueden incluir variaciones en la glucosilación, oxidación de metionina, formación de dicetopiperazina, isomerización de aspartato y desamidación de asparagina. Una modificación frecuente es la pérdida de un resto básico carboxi-terminal (tal como lisina o arginina) debido a la acción de las carboxipeptidasas (como se describe en Harris, R.J. Journal of Chromatography 705:129-134, 1995). Por consiguiente, la lisina C-terminal de la cadena pesada del anticuerpo puede estar ausente.

En una realización, la cadena pesada del anticuerpo comprende un dominio CH1 y la cadena ligera del anticuerpo comprende un dominio CL, ya sea kappa o lambda.

En una realización, la cadena ligera tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 22 y la cadena pesada tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 43.

En una realización, la cadena ligera tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 22 y la cadena pesada tiene la secuencia dada en la SEQ ID NO: 72.

En una realización, un aminoácido C-terminal de la molécula de anticuerpo se escinde durante las modificaciones postraduccionales.

En una realización, un aminoácido N-terminal de la molécula de anticuerpo se escinde durante las modificaciones postraduccionales.

La presente divulgación también proporciona una región específica o epítipo de FcRn humano que está unido por un anticuerpo proporcionado por la presente invención, en particular, un anticuerpo que comprende la secuencia de la cadena pesada gH20 (SEQ ID NO: 29) y/o la secuencia de la cadena ligera gL20 (SEQ ID NO: 15).

- 5 Esta región o epítipo específico del polipéptido FcRn humano se puede identificar mediante cualquier método de mapeo de epítipos adecuado conocido en la técnica en combinación con uno cualquiera de los anticuerpos proporcionados por la presente invención. Los ejemplos de dichos métodos incluyen la selección de péptidos de longitudes variables procedentes de FcRn para unirse al anticuerpo de la presente invención con el fragmento más pequeño que se puede unir específicamente al anticuerpo que contiene la secuencia del epítipo reconocido por el anticuerpo. Los péptidos FcRn pueden producirse sintéticamente o mediante digestión proteolítica del polipéptido FcRn. Los péptidos que se unen al anticuerpo se pueden identificar mediante, por ejemplo, análisis espectrométrico de masas. En otro ejemplo, se puede usar la espectroscopía de RMN o la cristalografía de rayos X para identificar el epítipo unido por un anticuerpo de la presente invención. Una vez identificado, el fragmento epitópico que se une a un anticuerpo de la presente invención se puede usar, si se requiere, como un inmunógeno para obtener anticuerpos adicionales que se unen al mismo epítipo.

En una realización, el anticuerpo de la presente divulgación se une a la secuencia extracelular de la cadena alfa de FcRn humano como se muestra a continuación:

20 AESHLSLLYH LTAVSSPAPG TPAFWVSGWL GPQQYLSYNS LRGEAEPCGA
WVWENQVSWY WEKETDLRI KEKLFLEAFK ALGGKGPYTL QGLLGCELGP
DNTSVPTAKF ALNGEEFMNF **DLKOGTWGGD WPEALAISQR WQQQDKAANK**

ELTFLLFSCP HRLREHLERG RGNLEWKEPP SMRLKARPSS PGFSVLTCSA
FSFYPPQLQL RFLRNGLAAG TGQGDFGPNs DGSFHASSSL TVKSGDEHHY
CCIVQHAGLA QPLRVELESPAKSS (SEQ ID NO: 94).

- 25 Los restos subrayados son aquellos que se sabe que son importantes para la interacción de FcRn humano con la región Fc de la IgG humana y los restos resaltados en negrita son aquellos implicados en la interacción de FcRn con el anticuerpo 1519 de la presente divulgación que comprende la secuencia de la cadena pesada gH20 (SEQ ID NO: 29) y la secuencia de la cadena ligera gL20 (SEQ ID NO: 15).

- 30 En un ejemplo, se proporciona una molécula de anticuerpo anti-FcRn que se une a un epítipo de FcRn humano que comprende al menos un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en los restos V105, P106, T107, A108 y K109 de la SEQ ID NO: 94 y al menos un resto, por ejemplo, al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 restos seleccionados del grupo que consiste en P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 y E133 de la SEQ ID NO: 94.

- 35 En un ejemplo, el epítipo de la molécula de anticuerpo se determina mediante cristalografía de rayos X utilizando la secuencia extracelular de la cadena alfa de FcRn (SEQ ID NO: 94) en complejo con β 2M.

- 40 En un ejemplo, se proporciona una molécula de anticuerpo anti-FcRn que se une a un epítipo de FcRn humano que comprende al menos un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en los restos V105, P106, T107, A108 y K109 de la SEQ ID NO: 94 y al menos un resto, por ejemplo, al menos 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 o 10 restos, seleccionados del grupo que consiste en E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123 y Q124 de la SEQ ID NO: 94.

- 45 En un ejemplo, se proporciona una molécula de anticuerpo anti-FcRn que se une a un epítipo de FcRn humano que comprende al menos dos, tres, cuatro o cinco aminoácidos seleccionados del grupo que consiste en los restos V105, P106, T107, A108 y K109 de la SEQ ID NO: 94 y al menos un resto seleccionado del grupo que consiste en E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123 y Q124 de la SEQ ID NO: 94.

- 50 En un ejemplo, se proporciona una molécula de anticuerpo anti-FcRn que se une a un epítipo de FcRn humano que comprende al menos un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en los restos V105, P106, T107, A108 y K109 de la SEQ ID NO: 94 y al menos un resto seleccionado del grupo que consiste en P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 y E133 de la SEQ ID NO: 94.

- 55 En un ejemplo, se proporciona una molécula de anticuerpo anti-FcRn que se une a un epítipo de FcRn humano que comprende al menos un aminoácido seleccionado del grupo que consiste en los restos V105, P106, T107, A108 y K109 de la SEQ ID NO: 94 y al menos un resto seleccionado del grupo que consiste en P100, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124 y G128 de la SEQ ID NO: 94.

En un ejemplo, se proporciona una molécula de anticuerpo anti-FcRn que se une a un epítipo de FcRn humano que comprende los restos V105, P106, T107, A108 y K109 de la SEQ ID NO:94 y al menos un resto seleccionado del grupo que consiste en P100, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124 y G128 de la SEQ ID NO: 94.

5 En un ejemplo, se proporciona una molécula de anticuerpo anti-FcRn que se une a un epítipo de FcRn humano que comprende los restos V105, P106, T107, A108 y K109 de la SEQ ID NO:94 y al menos un resto seleccionado del grupo que consiste en P100, E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 y E133 de la SEQ ID NO: 94.

10 En un ejemplo, se proporciona una molécula de anticuerpo anti-FcRn que se une a un epítipo de FcRn humano que comprende los restos P100, V105, P106, T107, A108 y K109 de la SEQ ID NO:94 y al menos un resto seleccionado del grupo que consiste en E115, E116, F117, M118, N119, F120, D121, L122, K123, Q124, G128, G129, D130, W131, P132 y E133 de la SEQ ID NO: 94.

15 En un ejemplo "al menos un resto" puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15 o 16 restos.

En un ejemplo, se proporciona una molécula de anticuerpo anti-FcRn que se une a un epítipo de FcRn humano que comprende o consiste en los restos 100, 105 a 109, 115 a 124 y 129 a 133 de la SEQ ID NO: 94.

20 Anticuerpos que inhiben de manera cruzada la unión de una molécula de anticuerpo de acuerdo con la presente invención, en particular, una molécula de anticuerpo que comprende la secuencia de la cadena pesada dada en la SEQ ID NO: 29 y la secuencia de la cadena ligera dada en la SEQ ID NO: 15 pueden ser igualmente útiles en la inhibición de la actividad de FcRn. Por consiguiente, la presente descripción también proporciona una molécula de anticuerpo anti-FcRn, que inhibe de manera cruzada la unión de una cualquiera de las moléculas de anticuerpo
25 descritas anteriormente en el presente documento a FcRn humano y/o está inhibida de manera cruzada para unirse a FcRn humano mediante uno cualquiera de esos anticuerpos. En una realización, dicho anticuerpo se une al mismo epítipo que un anticuerpo descrito anteriormente en el presente documento. En otra realización, el anticuerpo neutralizante de inhibición cruzada se une a un epítipo que bordea y/o se superpone con el epítipo unido por un anticuerpo descrito anteriormente en el presente documento.

30 Los anticuerpos de inhibición cruzada se pueden identificar utilizando cualquier método adecuado en la técnica, por ejemplo, mediante la utilización de ensayos BIAcore o ELISA de competición donde la unión del anticuerpo de inhibición cruzada a FcRn humano evita la unión de un anticuerpo de la presente invención o viceversa. Dichos ensayos de inhibición cruzada pueden usar FcRn natural o recombinante aislado o una proteína/polipéptido de fusión adecuado. En un ejemplo, la unión y la inhibición cruzada se miden utilizando el dominio extracelular de FcRn humano recombinante (SEQ ID NO: 94). En un ejemplo, el dominio extracelular de la cadena alfa de FcRn humano recombinante se usa en un complejo con $\beta 2$ microglobulina ($\beta 2M$) (SEQ ID NO: 95).

40 En una realización, se proporciona una molécula de anticuerpo anti-FcRn que inhibe la unión de FcRn a IgG y que inhibe de manera cruzada la unión de un anticuerpo cuya cadena pesada comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 29 y cuya cadena ligera comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 15 a FcRn humano. En una realización, los anticuerpos de inhibición cruzada proporcionados por la presente divulgación inhiben la unión de un anticuerpo que comprende la secuencia de la cadena pesada dada en la SEQ ID NO: 29 y la secuencia de la cadena ligera dada en la SEQ ID NO: 15 en más del 80 %, por ejemplo, en más del 85 %, tal como en más del 90 %, en particular, en más del 95 %.

Como alternativa o además, los anticuerpos anti-FcRn de acuerdo con este aspecto de la divulgación pueden inhibir de manera cruzada la unión a FcRn humano por un anticuerpo que comprende la secuencia de la cadena pesada dada en la SEQ ID NO: 29 y la secuencia de la cadena ligera dada en la SEQ ID NO: 15. Por lo tanto, también se
50 proporciona una molécula de anticuerpo anti-FcRn que inhibe la unión de FcRn a IgG y que está inhibida de manera cruzada para unirse a FcRn humano por un anticuerpo que comprende la secuencia de la cadena pesada dada en la SEQ ID NO: 29 y la secuencia de la cadena ligera dada en la SEQ ID NO: 15. En una realización, los anticuerpos anti-FcRn proporcionados por este aspecto de la divulgación están inhibidos de unirse a FcRn humano por un anticuerpo que comprende la secuencia de la cadena pesada dada en la SEQ ID NO: 29 y la secuencia de la cadena
55 ligera dada en la SEQ ID NO: 15 en más del 80 %, por ejemplo, en más del 85 %, tal como en más del 90 %, en particular, en más del 95 %.

En una realización, los anticuerpos de inhibición cruzada proporcionados por la presente divulgación son completamente humanos. En una realización, los anticuerpos de inhibición cruzada proporcionados por la presente divulgación están humanizados. En una realización, los anticuerpos de inhibición cruzada proporcionados por la presente divulgación tienen una afinidad por FcRn humano de 100 pM o menos. En una realización, los anticuerpos de inhibición cruzada proporcionados por la presente divulgación tienen una afinidad por FcRn humano de 50 pM o menos. La afinidad se puede medir utilizando los métodos descritos en el presente documento a continuación.

65 Las moléculas biológicas, como los anticuerpos o fragmentos, contienen grupos funcionales ácidos y/o básicos, lo que le da a la molécula una carga neta positiva o negativa. La cantidad de carga "observada" global dependerá de la

secuencia de aminoácidos absoluta de la entidad, el entorno local de los grupos cargados en la estructura 3D y las condiciones ambientales de la molécula. El punto isoeléctrico (pI) es el pH en el que una molécula particular o una superficie accesible al solvente de la misma no tiene carga eléctrica neta. En un ejemplo, el anticuerpo FcRn y fragmentos de la divulgación pueden diseñarse para tener un punto isoeléctrico apropiado. Esto puede conducir a anticuerpos y/o fragmentos con propiedades más consistentes, en particular perfiles adecuados de solubilidad y/o estabilidad y/o características mejoradas de purificación.

Por lo tanto, en un aspecto, la divulgación proporciona un anticuerpo FcRn humanizado diseñado para tener un punto isoeléctrico diferente al del anticuerpo identificado originalmente. El anticuerpo puede, por ejemplo, diseñarse mediante la sustitución de un resto de aminoácido, tal como la sustitución de un resto de aminoácido ácido con uno o más restos de aminoácidos básicos. Como alternativa, pueden introducirse restos de aminoácidos básicos o pueden eliminarse restos de aminoácidos ácidos. Como alternativa, si la molécula tiene un valor de pI inaceptablemente alto, se pueden introducir restos ácidos para disminuir el pI, según sea necesario. Es importante que cuando se manipula el pI se debe tener cuidado para conservar la actividad deseable del anticuerpo o fragmento. Por lo tanto, en una realización, el anticuerpo o fragmento diseñado mediante ingeniería genética tiene la misma o sustancialmente la misma actividad que el anticuerpo o fragmento "no modificado".

Programas como ** ExPASy http://www.expasy.ch/tools/pi_tool.html y http://www.iut-arles.univ-mrs.fr/w3bb/d_abim/compo-p.html, se puede usar para predecir el punto isoeléctrico del anticuerpo o fragmento.

Las moléculas de anticuerpo de la presente invención tienen adecuadamente una alta afinidad de unión, en particular, en el intervalo nanomolar. La afinidad puede medirse utilizando cualquier método adecuado conocido en la técnica, incluido BIAcore, como se describe en los Ejemplos en el presente documento, utilizando FcRn natural o recombinante aislado o una proteína/polipéptido de fusión adecuado. En un ejemplo, la afinidad se mide utilizando el dominio extracelular de FcRn humano recombinante como se describe en los Ejemplos en el presente documento (SEQ ID NO: 94). En un ejemplo, la afinidad se mide utilizando el dominio extracelular de la cadena alfa de FcRn humano (SEQ ID NO: 94) en asociación con la $\beta 2$ microglobulina ($\beta 2M$) (SEQ ID NO: 95). Adecuadamente, las moléculas de anticuerpo de la presente invención tienen una afinidad de unión por FcRn humano aislado de aproximadamente 1 nM o inferior.

En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad de unión de aproximadamente 500 pM o inferior (es decir, una afinidad más alta). En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad de unión de aproximadamente 250 nM o inferior. En una realización, la molécula de anticuerpo de la presente invención tiene una afinidad de unión de aproximadamente 200 nM o inferior. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-FcRn con una afinidad de unión de aproximadamente 100 pM o inferior. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-FcRn humanizado con una afinidad de unión de aproximadamente 100 pM o inferior. En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-FcRn con una afinidad de unión de 50 pM o inferior.

Es importante destacar que los anticuerpos de la presente invención son capaces de unirse a FcRn humano a pH 6 y pH 7,4 con afinidad de unión comparable. De manera ventajosa, por lo tanto, los anticuerpos son capaces de continuar uniéndose a FcRn incluso dentro del endosoma, maximizando así la inhibición de la unión de FcRn a IgG, véase la Figura 10 para ver una ilustración del mecanismo.

En una realización, la presente invención proporciona un anticuerpo anti-FcRn con una afinidad de unión de 100 pM o inferior cuando se mide a pH 6 y pH 7,4.

La afinidad de un anticuerpo o fragmento de unión de la presente invención, así como el grado en que un agente de unión (como un anticuerpo) inhibe la unión, se puede determinar por un experto en la técnica usando técnicas convencionales, por ejemplo, aquellas descritas por Scatchard et al. (Ann. KY. Acad. Sci. 51:660-672 (1949)) o por resonancia de plasmones de superficie (SPR, de sus siglas en inglés) utilizando sistemas como BIAcore. Para la resonancia de plasmón de superficie, las moléculas diana se inmovilizan en una fase sólida y se exponen a ligandos en una fase móvil que corre a lo largo de una célula de flujo. Si se produce la unión del ligando a la diana inmovilizada, el índice de refracción local cambia, lo que lleva a un cambio en el ángulo de la SPR, que se puede monitorear en tiempo real mediante la detección de cambios en la intensidad de la luz reflejada. Las velocidades de cambio de la señal de la SPR se pueden analizar para producir constantes de velocidad aparentes para las fases de asociación y disociación de la reacción de unión. La relación de estos valores da la constante de equilibrio aparente (afinidad) (véase, por ejemplo, Wolff et al, Cancer Res. 53:2560-65 (1993)).

En la presente invención, la afinidad de la molécula de anticuerpo de prueba se determina normalmente usando SPR de la siguiente manera. La molécula de anticuerpo de prueba se captura en la fase sólida y el dominio extracelular de la cadena alfa de FcRn humano en un complejo no covalente con $\beta 2M$ se ejecuta sobre el anticuerpo capturado en la fase móvil y se determina la afinidad de la molécula de anticuerpo de prueba para FcRn humano. La molécula de anticuerpo de prueba puede capturarse en la superficie del chip en fase sólida utilizando cualquier método apropiado, por ejemplo, utilizando un agente de captura específico anti-Fc o anti-Fab'. En un ejemplo, la afinidad se determina a pH 6. En un ejemplo, la afinidad se determina a pH 7,4.

Se apreciará que la afinidad de anticuerpos proporcionada por la presente divulgación puede alterarse usando cualquier método adecuado conocido en la técnica. La presente divulgación, por lo tanto, también se refiere a variantes de las moléculas de anticuerpo de la presente invención, que tienen una afinidad mejorada por FcRn. Dichas variantes se pueden obtener mediante una serie de protocolos de maduración de afinidad que incluyen la mutación de las CDR (Yang et al., J. Mol. Biol., 254, 392-403, 1995), el intercambio de cadenas (Marks et al., Bio/Technology, 10, 779-783, 1992), el uso de cepas mutadoras de *E. coli* (Low et al., J. Mol. Biol., 250, 359-368, 1996), el barajado de ADN (Patten et al., Curr. Opin. Biotechnol., 8, 724-733, 1997), la presentación de fagos (Thompson et al., J. Mol. Biol., 256, 77-88, 1996) la PCR sexual (Cramer et al., Nature, 391, 288-291, 1998). Vaughan et al. (*supra*) discute estos métodos de maduración de afinidad.

En una realización, las moléculas de anticuerpo de la presente invención inhiben la actividad de FcRn humano. Los ensayos adecuados para determinar la capacidad de un anticuerpo para inhibir FcRn se describen en los Ejemplos en el presente documento. Los ensayos adecuados para determinar si los anticuerpos inhiben la interacción de FcRn con moléculas de IgG circulantes como se describen en los Ejemplos en el presente documento. A continuación se describe, en el presente documento, un ensayo adecuado para determinar la capacidad de una molécula de anticuerpo para inhibir el reciclado de IgG *in vitro*.

Si se desea, un anticuerpo para su uso en la presente invención puede conjugarse con una o más moléculas efectoras. Se apreciará que la molécula efectora puede comprender una única molécula efectora o dos o más de dichas moléculas unidas de manera que formen una única fracción que se puede unir a los anticuerpos de la presente invención. Cuando se desee obtener un fragmento de anticuerpo unido a una molécula efectora, esto puede prepararse mediante procedimientos químicos estándar o de ADN recombinante en los que el fragmento de anticuerpo se une directamente o mediante un agente de acoplamiento a la molécula efectora. Las técnicas para conjugar dichas moléculas efectoras con anticuerpos son bien conocidas en la técnica (véase, Hellstrom et al., Controlled Drug Delivery, 2ª Ed., Robinson et al., eds., 1987, págs. 623-53; Thorpe et al., 1982, Immunol. Rev., 62:119-58 y Dubowchik et al., 1999, Pharmacology and Therapeutics, 83, 67-123). Los procedimientos químicos particulares incluyen, por ejemplo, los descritos en los documentos WO 93/06231, WO 92/22583, WO 89/00195, WO 89/01476 y WO 03/031581. Como alternativa, cuando la molécula efectora es una proteína o polipéptido, el enlace se puede lograr utilizando procedimientos de ADN recombinante, por ejemplo, como se describe en los documentos WO 86/01533 y EP0392745.

La expresión molécula efectora como se usa en el presente documento incluye, por ejemplo, agentes antineoplásicos, fármacos, toxinas, proteínas biológicamente activas, por ejemplo, enzimas, otro anticuerpo o fragmentos de anticuerpo, polímeros sintéticos o de origen natural, ácidos nucleicos y fragmentos de los mismos, por ejemplo, ADN, ARN o fragmentos del mismo, radionúclidos, particularmente radioyoduro, radioisótopos, metales quelados, nanopartículas y grupos indicadores tales como compuestos fluorescentes o compuestos que pueden detectarse mediante espectroscopía de RMN o ESR.

Los ejemplos de moléculas efectoras pueden incluir citotoxinas o agentes citotóxicos que incluyen cualquier agente que sea perjudicial para (por ejemplo, que destruya) las células. Los ejemplos incluyen combrestatinas, dolastatinas, epotilonas, estaurosporina, maitansinoides, espongistatinas, rizoxina, halicondrinas, roridinas, hemiasterlinas, taxol, citocalasina B, gramicidina D, bromuro de etidio, emetina, mitomicina, etopósido, tenopósido, vincristina, vinblastina, colchicina, doxorubicina, daunorrubicina, dihidroxiantracindiona, mitoxantrona, mitramicina, actinomicina D, 1-deshidrotestosterona, glucocorticoides, procaína, tetracaína, lidocaína, propanolol y puromicina y análogos u homólogos de los mismos.

Las moléculas efectoras también incluyen, pero sin limitación, antimetabolitos (por ejemplo, metotrexato, 6-mercaptopurina, 6-tioguanina, citarabina, 5-fluorouracil decarbazina), agentes alquilantes (por ejemplo, mecloretamina, tioepa clorambucilo, melfalán, carmustina (BSNU) y lomustina (CCNU), ciclofosfamida, busulfán, dibromomanitol, estreptozotocina, mitomicina C y cis-diclorodiamina-platino (II) (DDP) cisplatino), antraciclina (por ejemplo, daunorrubicina (anteriormente daunomicina) y doxorubicina), antibióticos (por ejemplo, dactinomicina (anteriormente actinomicina), bleomicina, mitramicina, antramicina (AMC), caliqueamicinas o duocarmicinas) y agentes antimetabólicos (por ejemplo, vincristina y vinblastina).

Otras moléculas efectoras pueden incluir radionúclidos quelados, tales como ^{111}In y ^{90}Y , Lu^{177} , Bismuto 213 , Californio 252 , Iridio 192 y Tungsteno 188 /Renio 188 ; o fármacos tales como, pero sin limitación, alquilfosfolinas, inhibidores de topoisomerasa I, taxoides y suramina.

Otras moléculas efectoras incluyen proteínas, péptidos y enzimas. Las enzimas de interés incluyen, pero sin limitación, enzimas proteolíticas, hidrolasas, liasas, isomerasas, transferasas. Las proteínas, polipéptidos y péptidos de interés incluyen, pero sin limitación, inmunoglobulinas, toxinas tales como abrina, ricina A, exotoxina de *Pseudomonas* o toxina diftérica, una proteína tal como insulina, factor de necrosis tumoral, α -interferón, β -interferón, factor de crecimiento nervioso, factor de crecimiento procedente de plaquetas o activador de plasminógeno tisular, un agente trombótico o un agente antiangiogénico, por ejemplo, angiostatina o endostatina, o, un modificador de la respuesta biológica tal como una linfocina, interleucina-1 (IL-1), interleucina-2 (IL-2), factor estimulante de colonias de macrófagos de granulocitos (GM-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor de

crecimiento nervioso (NGF) u otro factor de crecimiento e inmunoglobulinas.

Otras moléculas efectoras pueden incluir sustancias detectables útiles, por ejemplo, en el diagnóstico. Los ejemplos de sustancias detectables incluyen diversas enzimas, grupos prostéticos, materiales fluorescentes, materiales luminiscentes, materiales bioluminiscentes, núclidos radiactivos, metales emisores de positrones (para su uso en tomografía de emisión de positrones) e iones metálicos paramagnéticos no radiactivos. Véase en general la Patente de Estados Unidos N.º 4.741.900 para iones metálicos que se pueden conjugar con anticuerpos para su uso como diagnóstico. Las enzimas adecuadas incluyen peroxidasa de rábano picante, fosfatasa alcalina, betagalactosidasa o acetilcolinesterasa; los grupos protésicos adecuados incluyen estreptavidina, avidina y biotina; los materiales fluorescentes adecuados incluyen umbeliferona, fluoresceína, isotiocianato de fluoresceína, rodamina, diclorotriazinilamina fluoresceína, cloruro de dansilo y ficoeritrina; los materiales luminiscentes adecuados incluyen luminol; los materiales bioluminiscentes incluyen luciferasa, luciferina y aecutorina; y los núclidos radioactivos adecuados incluyen ^{125}I , ^{131}I , ^{111}In y ^{99}Tc .

En otro ejemplo, la molécula efectora puede aumentar la semivida del anticuerpo *in vivo* y/o reducir la inmunogenicidad del anticuerpo y/o mejorar la administración de un anticuerpo a través de una barrera epitelial al sistema inmunitario. Los ejemplos de moléculas efectoras adecuadas de este tipo incluyen polímeros, albúmina, proteínas de unión a albúmina o compuestos de unión a albúmina tales como los descritos en el documento WO05/117984.

En una realización, una semivida proporcionada por una molécula efectora que es independiente de FcRn es ventajosa.

Cuando la molécula efectora es un polímero, puede, en general, ser un polímero sintético o de origen natural, por ejemplo un polialquileno, polialquenileno o polioxialquileno de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituido o un polisacárido ramificado o no ramificado, por ejemplo, un homo- o heteropolisacárido.

Los sustituyentes opcionales específicos que pueden estar presentes en los polímeros sintéticos mencionados anteriormente incluyen uno o más grupos hidroxilo, metilo o metoxi.

Ejemplos específicos de polímeros sintéticos incluyen poli(propilenglicol), poli(alcohol vinílico) o poli(etilenglicol) de cadena lineal o ramificada opcionalmente sustituido, o derivados de los mismos, especialmente poli(etilenglicol) opcionalmente sustituido tal como metoxipoli(etilenglicol) o derivados del mismo.

Los polímeros de origen natural específicos incluyen lactosa, amilosa, dextrano, glucógeno o derivados de los mismos.

En una realización, el polímero es albúmina o un fragmento de la misma, tal como albúmina de suero humano o un fragmento de la misma.

Los "derivados", como se usan en el presente documento, pretenden incluir derivados reactivos, por ejemplo, grupos reactivos selectivos para tiol tales como maleimidas y similares. El grupo reactivo puede estar unido directamente o a través de un segmento enlazador al polímero. Se apreciará que el resto de dicho grupo formará en algunos casos parte del producto como el grupo de enlace entre el fragmento de anticuerpo y el polímero.

El tamaño del polímero puede variar según se desee, pero generalmente estará en un intervalo de peso molecular promedio de 500 Da a 50000 Da, por ejemplo de 5000 a 40000 Da, tal como de 20000 a 40000 Da. El tamaño del polímero puede seleccionarse, en particular, en función del uso previsto del producto, por ejemplo, la capacidad de localizar ciertos tejidos como tumores o extender la semivida circulante (para una revisión, véase Chapman, 2002, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, 531-545). Por lo tanto, por ejemplo, cuando se pretende que el producto salga de la circulación y penetre en el tejido, por ejemplo para su uso en el tratamiento de un tumor, puede ser ventajoso usar un polímero de peso molecular pequeño, por ejemplo, con un peso molecular de alrededor de 5000 Da. Para aplicaciones donde el producto permanece en la circulación, puede ser ventajoso usar un polímero de mayor peso molecular, por ejemplo, que tenga un peso molecular en el intervalo de 20000 Da a 40000 Da.

Los polímeros adecuados incluyen un polímero polialquileno, tal como un poli(etilenglicol) o, especialmente, un metoxipoli(etilenglicol) o un derivado del mismo, y especialmente con un peso molecular en el intervalo de aproximadamente 15000 Da a aproximadamente 40000 Da.

En un ejemplo, los anticuerpos para su uso en la presente invención se unen a fracciones de poli(etilenglicol) (PEG). En un ejemplo particular, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo y las moléculas de PEG pueden unirse a través de cualquier grupo funcional de aminoácidos de cadena lateral o de aminoácido terminal disponible ubicado en el fragmento de anticuerpo, por ejemplo, cualquier grupo amino, imino, tiol, hidroxilo o carboxilo libre. Dichos aminoácidos pueden aparecer naturalmente en el fragmento de anticuerpo o pueden modificarse por ingeniería genética en el fragmento usando métodos de ADN recombinante (véase, por ejemplo, los documentos US 5.219.996; US 5.667.425; WO98/25971, WO2008/038024). En un ejemplo, la molécula de anticuerpo de la presente

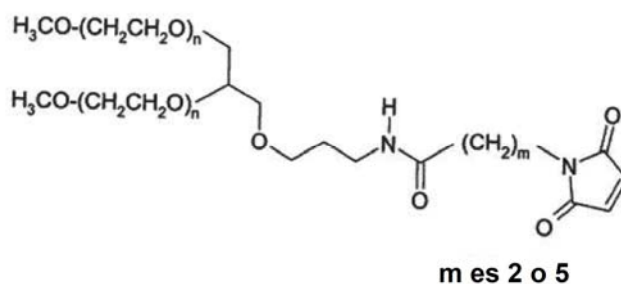
invención es un fragmento Fab modificado en el que la modificación es la adición al extremo C-terminal de su cadena pesada, de uno o más aminoácidos para permitir la unión de una molécula efectora. Adecuadamente, los aminoácidos adicionales forman una región bisagra modificada que contiene uno o más restos de cisteína a los que se puede unir la molécula efectora. Se pueden usar múltiples sitios para unir dos o más moléculas de PEG.

Adecuadamente, las moléculas de PEG están unidas covalentemente a través de un grupo tiol de al menos un resto de cisteína ubicado en el fragmento de anticuerpo. Cada molécula de polímero unida al fragmento de anticuerpo modificado puede unirse covalentemente al átomo de azufre de un resto de cisteína ubicado en el fragmento. El enlace covalente generalmente será un enlace disulfuro o, en particular, un enlace azufre-carbono. Cuando se usa un grupo tiol como punto de unión, se pueden usar moléculas efectoras activadas apropiadamente, por ejemplo, derivados selectivos de tiol tales como maleimidas y derivados de cisteína. Se puede usar un polímero activado como material de partida en la preparación de fragmentos de anticuerpos modificados con polímeros como se describe anteriormente. El polímero activado puede ser cualquier polímero que contenga un grupo reactivo con tiol, tal como un ácido o éster alfa-halocarboxílico, por ejemplo, yodoacetamida, una imida, por ejemplo, maleimida, una vinil sulfona o un disulfuro. Dichos materiales de partida pueden obtenerse comercialmente (por ejemplo, de Nektar, anteriormente Shearwater Polymers Inc., Huntsville, AL, EE.UU.) o pueden prepararse a partir de materiales de partida disponibles comercialmente utilizando procedimientos químicos convencionales. Las moléculas de PEG particulares incluyen metoxi-PEG-amina 20K (obtenible de Nektar, anteriormente Shearwater; Rapp Polymere; y SunBio) y M-PEG-SPA (obtenible de Nektar, anteriormente Shearwater).

En una realización, el anticuerpo es un fragmento Fab modificado, fragmento Fab' o diFab que está PEGilado, es decir, tiene PEG (poli(etilenglicol)) unido covalentemente al mismo, por ejemplo, de acuerdo con el método desvelado en los documentos EP 0948544 o EP1090037 [véase también "Poly(ethyleneglycol) Chemistry, Biotechnical and Biomedical Applications", 1992, J. Milton Harris (ed), Plenum Press, Nueva York, "Poly(ethyleneglycol) Chemistry and Biological Applications", 1997, J. Milton Harris y S. Zalipsky (eds), American Chemical Society, Washington DC y "Bioconjugation Protein Coupling Techniques for the Biomedical Sciences", 1998, M. Aslam y A. Dent, Grove Publishers, Nueva York; Chapman, A. 2002, Advanced Drug Delivery Reviews 2002, 54:531-545]. En un ejemplo, el PEG está unido a una cisteína en la región bisagra. En un ejemplo, un fragmento Fab modificado con PEG tiene un grupo maleimida unido covalentemente a un solo grupo tiol en una región bisagra modificada. Un resto de lisina puede unirse covalentemente al grupo maleimida y a cada uno de los grupos amina en el resto de lisina puede unirse un polímero de metoxipoli(etilenglicol) que tiene un peso molecular de aproximadamente 20.000 Da. El peso molecular total del PEG unido al fragmento Fab puede, por lo tanto, ser aproximadamente 40.000 Da.

Las moléculas de PEG particulares incluyen 2-[3-(N-maleimido)propionamido]etil amida de N,N'-bis(metoxipoli(etilenglicol) PM 20.000) lisina modificada, también conocida como PEG2MAL40K (que se puede obtener de Nektar, anteriormente Shearwater).

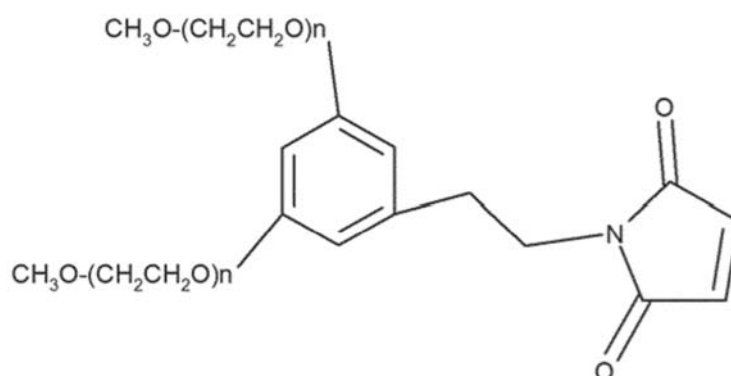
Las fuentes alternativas de enlazadores PEG incluyen los NOF que suministran GL2-400MA3 (en donde m en la estructura inferior es 5) y GL2-400MA (donde m es 2) y n es aproximadamente 450:



Es decir, cada PEG tiene aproximadamente 20.000 Da.

Por lo tanto, en una realización, el PEG es 2,3-bis(metilpolioxietileno-oxi)-1-[[3-(6-maleimido-1-oxohexil)amino]propiloxi} hexano (el PEG ramificado de 2 brazos, -(CH2) 3NHCO (CH2) 5-MAL, Pm 40.000 conocido como SUNBRIGHT GL2-400MA3).

Otras moléculas efectoras de PEG alternativas del siguiente tipo:



están disponibles de Dr. Reddy, NOF y Jenkem.

5 En una realización, se proporciona un anticuerpo que está PEGilado (por ejemplo, con un PEG descrito en el presente documento), unido a través de un resto de aminoácido de cisteína en o alrededor del aminoácido 226 en la cadena, por ejemplo, el aminoácido 226 de la cadena pesada (mediante secuenciación secuencial), por ejemplo el aminoácido 226 de la SEQ ID NO: 36.

10 En una realización, la presente invención proporciona una molécula de Fab'PEG que comprende uno o más polímeros de PEG, por ejemplo, 1 o 2 polímeros, tales como un polímero o polímeros de 40 kDa.

Las moléculas de Fab'-PEG de acuerdo con la presente invención pueden ser particularmente ventajosas porque tienen una semivida independiente del fragmento Fc. En un ejemplo, la presente divulgación proporciona un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a FcRn del mismo como se define en el presente documento para su uso en un método para tratar una enfermedad mejorada mediante la inhibición de FcRn humano que comprende administrar una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a FcRn del mismo en el que el anticuerpo o fragmento de unión del mismo tiene una semivida que es independiente de la unión de Fc a FcRn.

20 En una realización, se proporciona un Fab' conjugado a un polímero, tal como una molécula de PEG, una molécula de almidón o una molécula de albúmina.

25 En una realización, se proporciona un scFv conjugado con un polímero, tal como una molécula de PEG, una molécula de almidón o una molécula de albúmina.

En una realización, el anticuerpo o fragmento se conjuga con una molécula de almidón, por ejemplo, para aumentar la semivida. Los métodos de conjugación de almidón con una proteína se describen en el documento US 8.017.739.

30 En una realización, se proporciona una molécula de unión anti-FcRn que:

- Causa el 70 % de reducción de la concentración de IgG en plasma,
- Con no más del 20 % de reducción de la concentración de albúmina en plasma, y/o
- Con la posibilidad de repetir la dosificación para lograr un mantenimiento a largo plazo de una baja concentración de IgG en plasma.

La presente invención también proporciona una secuencia de ADN aislada que codifica la cadena(s) pesada(s) y/o ligera(s) de una molécula de anticuerpo de la presente invención. Adecuadamente, la secuencia de ADN codifica la cadena pesada o ligera de una molécula de anticuerpo de la presente invención. La secuencia de ADN de la presente invención puede comprender ADN sintético, por ejemplo, producido mediante procesamiento químico, ADNc, ADN genómico o cualquier combinación de los mismos.

Las secuencias de ADN que codifican una molécula de anticuerpo de la presente invención se pueden obtener mediante métodos bien conocidos por los expertos en la técnica. Por ejemplo, las secuencias de ADN que codifican parte o la totalidad de las cadenas pesadas y ligeras del anticuerpo se pueden sintetizar según se desee a partir de las secuencias de ADN determinadas o sobre la base de las secuencias de aminoácidos correspondientes.

El ADN que codifica las secuencias marcoceptoras está ampliamente disponible para los expertos en la técnica y se puede sintetizar fácilmente sobre la base de sus secuencias de aminoácidos conocidas.

50 Se pueden usar técnicas estándar de biología molecular para preparar secuencias de ADN que codifican la molécula de anticuerpo de la presente invención. Las secuencias de ADN deseadas se pueden sintetizar completamente o en parte usando técnicas de síntesis de oligonucleótidos. Las técnicas de mutagénesis dirigida al sitio y reacción en

cadena de la polimerasa (PCR) se pueden usar según sea apropiado.

En el presente documento se proporcionan ejemplos de secuencias de ADN adecuadas.

- 5 Ejemplos de secuencias de ADN adecuadas que codifican la región variable de cadena ligera de 1519 se proporcionan en la SEQ ID NO: 16, SEQ ID NO: 17 y SEQ ID NO: 90.

Ejemplos de secuencias de ADN adecuadas que codifican la región variable de cadena pesada de 1519 se proporcionan en la SEQ ID NO: 30, SEQ ID NO: 31 y SEQ ID NO: 92.

- 10 Ejemplos de secuencias de ADN adecuadas que codifican la cadena ligera (variable y constante) de 1519 se proporcionan en la SEQ ID NO: 23, SEQ ID NO: 75 y SEQ ID NO: 91.

- 15 Ejemplos de secuencias de ADN adecuadas que codifican la cadena pesada (variable y constante, dependiendo del formato) de 1519 se proporcionan en las SEQ ID NO: 37, 38 y 76 (Fab'), SEQ ID NO: 72 u 85 (IgG1), SEQ ID NO: 44 o 93 (IgG4P) y SEQ ID NO: 88 (IgG4).

- 20 Por consiguiente, en un ejemplo, la presente invención proporciona una secuencia de ADN aislada que codifica la cadena pesada de un fragmento Fab' de anticuerpo de la presente invención que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 37. También se proporciona una secuencia de ADN aislada que codifica la cadena ligera de un fragmento Fab' de anticuerpo de la presente invención que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 23.

- 25 En un ejemplo, la presente invención proporciona una secuencia de ADN aislada que codifica la cadena pesada y la cadena ligera de un anticuerpo IgG4(P) de la presente invención en la que el ADN que codifica la cadena pesada comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 44 o la SEQ ID NO: 93 y el ADN que codifica la cadena ligera comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 75 o la SEQ ID NO: 91.

- 30 En un ejemplo, la presente invención proporciona una secuencia de ADN aislada que codifica la cadena pesada y la cadena ligera de un anticuerpo Fab-dsFv de la presente invención en la que el ADN que codifica la cadena pesada comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 51 o la SEQ ID NO: 80 y el ADN que codifica la cadena ligera comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 47 o la SEQ ID NO: 79.

- 35 La presente invención también se refiere a un vector de clonación o expresión que comprende una o más secuencias de ADN de la presente invención. Por consiguiente, se proporciona un vector de clonación o expresión que comprende una o más secuencias de ADN que codifican un anticuerpo de la presente invención. Adecuadamente, el vector de clonación o expresión comprende dos secuencias de ADN, que codifican la cadena ligera y la cadena pesada de la molécula de anticuerpo de la presente invención, respectivamente, y las secuencias señal adecuadas. En un ejemplo, el vector comprende una secuencia intergénica entre las cadenas pesada y ligera (véase el documento WO03/048208).

- 40 Los métodos generales mediante los cuales se pueden construir los vectores, los métodos de transfección y los métodos de cultivo son bien conocidos por los expertos en la técnica. A este respecto, se hace referencia a "Current Protocols in Molecular Biology", 1999, F. M. Ausubel (ed), Wiley Interscience, Nueva York y el Manual Maniatis producido por Cold Spring Harbor Publishing.

- 45 También se proporciona una célula hospedadora que comprende uno o más vectores de clonación o expresión que comprenden una o más secuencias de ADN que codifican un anticuerpo de la presente invención.

- 50 Se puede usar cualquier sistema de vector/célula hospedadora adecuado para la expresión de las secuencias de ADN que codifican la molécula de anticuerpo de la presente invención. Se pueden usar bacterianos, por ejemplo *E. coli*, y otros sistemas microbianos o también se pueden usar sistemas de expresión de células hospedadoras eucariotas, por ejemplo, mamíferos. Las células hospedadoras de mamífero adecuadas incluyen células CHO, de mieloma o de hibridoma.

- 55 Los tipos adecuados de células de ovario de hámster chino (células CHO) para su uso en la presente invención pueden incluir células CHO y CHO-K1 que incluyen células dhfr-CHO, tales como células CHO-DG44 y células CHO-DXB11 y que se pueden usar con un marcador seleccionable DHFR o células CHOK1-SV que se pueden usar con un marcador seleccionable de glutamina sintetasa. Otros tipos de células de uso en la expresión de anticuerpos incluyen líneas celulares linfocíticas, por ejemplo, células de mieloma NSO y células SP2, células COS.

- 60 La presente invención también proporciona un proceso para la producción de una molécula de anticuerpo de acuerdo con la presente invención que comprende cultivar una célula hospedadora que contiene un vector de la presente invención en condiciones adecuadas para conducir a la expresión de proteínas a partir del ADN que codifica la molécula de anticuerpo de la presente invención, y aislar la molécula de anticuerpo.

65

La molécula de anticuerpo puede comprender solo un polipéptido de cadena pesada o ligera, en cuyo caso solo se necesita usar una secuencia que codifica el polipéptido de cadena pesada o cadena ligera para transfectar las células hospedadoras. Para la producción de productos que comprenden tanto cadenas pesadas como ligeras, la línea celular puede transfectarse con dos vectores, un primer vector que codifica un polipéptido de cadena ligera y un segundo vector que codifica un polipéptido de cadena pesada. Como alternativa, se puede usar un solo vector, el vector que incluye secuencias que codifican polipéptidos de cadena ligera y cadena pesada.

Los anticuerpos y fragmentos de acuerdo con la presente divulgación se expresan a buenos niveles de las células hospedadoras. Por lo tanto, las propiedades de los anticuerpos y/o fragmentos son propicias para el procesamiento comercial.

Por lo tanto, se proporciona un proceso para cultivar una célula hospedadora y expresar un anticuerpo o fragmento del mismo, aislar esta última y, opcionalmente, purificarla para proporcionar un anticuerpo o fragmento aislado. En una realización, el proceso comprende además la etapa de conjugar una molécula efectora con el anticuerpo o fragmento aislado, por ejemplo, conjugar con un polímero de PEG en particular como se describe en el presente documento.

En una realización, se proporciona un proceso para purificar un anticuerpo (en particular un anticuerpo o fragmento de acuerdo con la invención) que comprende las etapas: realizar una cromatografía de intercambio aniónico en modo no vinculante, de modo que las impurezas se conserven en la columna y se eluya el anticuerpo.

En una realización, la purificación emplea captura por afinidad en una columna FcRn.

En una realización, la purificación emplea azul de cibacrón o similar para la purificación de moléculas de fusión o conjugado de albúmina.

Las resinas de intercambio iónico adecuadas para su uso en el proceso incluyen la resina Q.FF (suministrada por GE-Healthcare). La etapa puede, por ejemplo, realizarse a un pH de aproximadamente 8.

El proceso puede comprender además una etapa de captura inicial que emplea cromatografía de intercambio catiónico, realizada, por ejemplo, a un pH de aproximadamente 4 a 5, tal como 4,5. La cromatografía de intercambio catiónico puede, por ejemplo, emplear una resina tal como la resina CaptoS o SP sefarosa FF (suministrada por GE-Healthcare). El anticuerpo o fragmento se puede entonces eluir de la resina empleando una solución de sal iónica tal como cloruro de sodio, por ejemplo, a una concentración de 200 mM.

Por lo tanto, la etapa o etapas del cromatógrafo pueden incluir una o más etapas de lavado, según sea adecuado.

El proceso de purificación también puede comprender una o más etapas de filtración, tal como una etapa de diafiltración.

Por lo tanto, en una realización, se proporciona un anticuerpo o fragmento anti-FcRn purificado, por ejemplo, un anticuerpo o fragmento humanizado, en particular, un anticuerpo o fragmento de acuerdo con la invención, sustancialmente purificado, en particular, libre o sustancialmente libre de endotoxinas y/o proteína o ADN de la célula hospedadora.

La forma purificada, tal como se utiliza *supra*, pretende referirse a una pureza de al menos el 90 %, tal como el 91, 92, 93, 94, 95, 96, 97, 98, 99 % p/p o más puro.

Sustancialmente libre de endotoxinas se refiere, en general, a un contenido de endotoxinas de 1 UE por mg de producto de anticuerpo o menos, tal como 0,5 o 0,1 UE por mg de producto.

En general, se considera que la proteína o el ADN de la célula hospedadora está sustancialmente libre se refiere al contenido de ADN y/o proteínas de la célula hospedadora de 400 µg por mg de producto de anticuerpo o menos, tal como 100 µg por mg o menos, en particular, 20 µg por mg, según sea adecuado.

La molécula de anticuerpo de la presente invención también puede usarse en el diagnóstico, por ejemplo, en el diagnóstico *in vivo* y en la obtención de imágenes de estados de enfermedad que implican FcRn.

Como los anticuerpos de la presente invención son útiles en el tratamiento y/o la profilaxis de una afección patológica, la presente invención también proporciona una composición farmacéutica o de diagnóstico que comprende una molécula de anticuerpo de la presente invención en combinación con uno o más de un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable. Por consiguiente, se proporciona el uso de una molécula de anticuerpo de la invención para la fabricación de un medicamento. La composición generalmente se suministrará como parte de una composición farmacéutica estéril que normalmente incluirá un vehículo farmacéuticamente aceptable. Una composición farmacéutica de la presente invención puede comprender adicionalmente un excipiente farmacéuticamente aceptable.

La presente invención también proporciona un proceso para la preparación de una composición farmacéutica o de diagnóstico que comprende añadir y mezclar la molécula de anticuerpo de la presente invención junto con uno o más de un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.

5 La molécula de anticuerpo puede ser el único principio activo en la composición farmacéutica o de diagnóstico o puede ir acompañada de otros principios activos que incluyen otros ingredientes de anticuerpos o ingredientes que no son anticuerpos tales como los esteroides u otras moléculas de fármacos, en particular moléculas de fármacos cuya semivida es independiente de la unión de FcRn.

10 Las composiciones farmacéuticas comprenden adecuadamente una cantidad terapéuticamente eficaz del anticuerpo de la invención. La expresión "cantidad terapéuticamente eficaz", como se usa en el presente documento, se refiere a una cantidad de un agente terapéutico necesaria para tratar, mejorar o evitar una enfermedad o afección diana, o para exhibir un efecto terapéutico o preventivo detectable. Para cualquier anticuerpo, la cantidad terapéuticamente eficaz se puede estimar inicialmente ya sea en ensayos de cultivo celular o en modelos animales, generalmente en roedores, conejos, perros, cerdos o primates. El modelo animal también se puede usar para determinar el intervalo de concentración apropiado y la vía de administración. Dicha información se puede usar luego para determinar las dosis útiles y las vías de administración en seres humanos.

20 La cantidad terapéuticamente eficaz precisa para un sujeto humano dependerá de la gravedad del estado de la enfermedad, la salud general del sujeto, la edad, el peso y el género del sujeto, la dieta, el tiempo y la frecuencia de administración, la combinación de fármacos, las sensibilidades de reacción y tolerancia/respuesta a la terapia. Esta cantidad se puede determinar mediante la experimentación de rutina y está dentro del criterio del clínico. En general, una cantidad terapéuticamente eficaz será de 0,01 mg/kg a 500 mg/kg, por ejemplo, de 0,1 mg/kg a 200 mg/kg, tal como 100 mg/kg. Las composiciones farmacéuticas pueden presentarse convenientemente en formas de dosis unitarias que contienen una cantidad predeterminada de un agente activo de la invención por dosis.

Las dosis terapéuticas de los anticuerpos de acuerdo con la presente divulgación no muestran efectos toxicológicos aparentes *in vivo*.

30 En una realización de un anticuerpo o fragmento de acuerdo con la invención, una dosis única puede proporcionar hasta un 70 % de reducción en los niveles circulantes de IgG.

La reducción terapéutica máxima en IgG circulante se puede observar aproximadamente 1 semana después de la administración de la dosis terapéutica en cuestión. Los niveles de IgG pueden recuperarse durante un período de aproximadamente seis semanas si no se administran dosis terapéuticas adicionales.

De forma ventajosa, los niveles de IgG *in vivo* pueden mantenerse a un nivel apropiadamente bajo mediante la administración de dosis secuenciales del anticuerpo o fragmentos de acuerdo con la divulgación.

40 Las composiciones pueden administrarse individualmente a un paciente o pueden administrarse en combinación (por ejemplo, de manera simultánea, secuencial o por separado) con otros agentes, fármacos u hormonas.

En una realización, los anticuerpos o fragmentos de acuerdo con la presente divulgación se emplean con una terapia inmunosupresora, tal como un esteroide, en particular prednisona.

45 En una realización, los anticuerpos o fragmentos de acuerdo con la presente divulgación se emplean con Rituximab u otras terapias de linfocitos B.

50 En una realización, los anticuerpos o fragmentos de acuerdo con la presente divulgación se emplean con cualquier agente modulador de linfocitos B o linfocitos T o inmunomodulador. Los ejemplos incluyen metotrexato, micofenolato y azatioprina.

La dosis a la que se administra la molécula de anticuerpo de la presente invención depende de la naturaleza de la afección a tratar, el grado de inflamación presente y de si la molécula de anticuerpo se está utilizando de forma profiláctica o para tratar una afección existente.

60 La frecuencia de la dosis dependerá de la semivida de la molécula de anticuerpo y de la duración de su efecto. Si la molécula de anticuerpo tiene una semivida corta (por ejemplo, de 2 a 10 horas) puede ser necesario administrar una o más dosis por día. Como alternativa, si la molécula de anticuerpo tiene un perfil de semivida larga (por ejemplo, de 2 a 15 días) y/o de farmacodinámica (PD, de sus siglas en inglés) de larga duración, solo puede ser necesario administrar una dosis una vez al día, una vez por semana o incluso una vez cada 1 o 2 meses.

En una realización, la dosis se administra bisemanalmente, es decir, dos veces al mes.

65 La semivida, como se emplea en el presente documento, pretende referirse a la duración de la molécula en circulación, por ejemplo, en suero/plasma.

La farmacodinámica, como se emplea en el presente documento, se refiere al perfil y, en particular, a la duración de la acción biológica de la molécula de acuerdo con la presente divulgación.

El vehículo farmacéuticamente aceptable no debe inducir la producción de anticuerpos perjudiciales para el individuo que recibe la composición y no debe ser tóxico. Los vehículos adecuados pueden ser macromoléculas grandes y de metabolismo lento, tales como las proteínas, polipéptidos, liposomas, polisacáridos, ácidos polilácticos, ácidos poliglicólicos, aminoácidos poliméricos, copolímeros de aminoácidos y partículas de virus inactivas.

Se pueden usar sales farmacéuticamente aceptables, por ejemplo, sales de ácidos minerales, tales como clorhidratos, bromhidratos, fosfatos y sulfatos, o sales de ácidos orgánicos, tales como acetatos, propionatos, malonatos y benzoatos.

Los vehículos farmacéuticamente aceptables en composiciones terapéuticas pueden contener adicionalmente líquidos tales como agua, solución salina, glicerol y etanol. Además, en tales composiciones pueden estar presentes sustancias auxiliares, tales como agentes humectantes o emulsionantes o sustancias tamponantes del pH. Dichos vehículos permiten que las composiciones farmacéuticas se formulen como comprimidos, píldoras, grageas, cápsulas, líquidos, geles, jarabes, pastas y suspensiones, para la ingestión por parte del paciente.

Las formas adecuadas para la administración incluyen formas adecuadas para la administración parenteral, por ejemplo, mediante inyección o infusión, por ejemplo, mediante inyección en bolo o infusión continua. Cuando el producto es para inyección o infusión, puede tomar la forma de una suspensión, solución o emulsión en un vehículo aceitoso o acuoso y puede contener agentes de formulación, como agentes de suspensión, conservantes, estabilizantes y/o dispersantes. Como alternativa, la molécula de anticuerpo puede estar en forma seca, para reconstituirse antes de usarla con un líquido estéril apropiado.

Una vez formuladas, las composiciones de la invención se pueden administrar directamente al sujeto. Los sujetos a tratar pueden ser animales. Sin embargo, en una o más realizaciones, las composiciones están adaptadas para la administración a sujetos humanos.

Adecuadamente, en las formulaciones de acuerdo con la presente divulgación, el pH de la formulación final no es similar al valor del punto isoelectrico del anticuerpo o fragmento, por ejemplo, si el pI de la proteína está en el intervalo de 8-9 o superior, entonces una formulación de pH de 7 puede ser apropiada. Si bien no deseamos estar limitados por la teoría, se piensa que esto puede proporcionar finalmente una formulación final con estabilidad mejorada, por ejemplo, el anticuerpo o fragmento permanece en solución.

En un ejemplo, la formulación farmacéutica a un pH en el intervalo de 4,0 a 7,0 comprende: de 1 a 200 mg/ml de una molécula de anticuerpo de acuerdo con la presente divulgación, de 1 a 100 mM de un tampón, del 0,001 al 1 % de un tensioactivo, a) de 10 a 500 mM de un estabilizador, b) de 10 a 500 mM de un estabilizador y de 5 a 500 mM de un agente de tonicidad, o c) de 5 a 500 mM de un agente de tonicidad.

Las composiciones farmacéuticas de esta invención pueden administrarse mediante cualquier número de rutas que incluyen, pero sin limitación, oral, intravenosa, intramuscular, intraarterial, intramedular, intratecal, intraventricular, transdérmica, transcutánea (por ejemplo, véase el documento WO98/20734), subcutánea, intraperitoneal, intranasal, entérica, tópica, sublingual, intravaginal o rectal. También se pueden usar hiposprays para administrar las composiciones farmacéuticas de la invención. Normalmente, las composiciones terapéuticas se pueden preparar como inyectables, como soluciones líquidas o suspensiones. También se pueden preparar formas sólidas adecuadas para solución o suspensión en vehículos líquidos antes de la inyección.

El suministro directo de las composiciones generalmente se llevará a cabo mediante inyección, subcutánea, intraperitoneal, intravenosa o intramuscular, o se administrará al espacio intersticial de un tejido. Las composiciones también se pueden administrar en una lesión. El tratamiento de dosificación puede ser un programa de dosis única o un programa de dosis múltiple.

Se apreciará que el principio activo en la composición será una molécula de anticuerpo. Como tal, será susceptible a la degradación en el tracto gastrointestinal. Por lo tanto, si la composición se va a administrar por una vía que utiliza el tracto gastrointestinal, la composición deberá contener agentes que protejan al anticuerpo de la degradación, pero que liberen el anticuerpo una vez que se haya absorbido del tracto gastrointestinal.

Una discusión exhaustiva de los vehículos farmacéuticamente aceptables está disponible en Remington's Pharmaceutical Sciences (Mack Publishing Company, N.J. 1991).

En una realización, la formulación se proporciona como una formulación para administraciones tópicas que incluye inhalación.

Las preparaciones inhalables adecuadas incluyen polvos inhalables, aerosoles dosificadores que contienen gases propulsores o soluciones inhalables libres de gases propulsores. Los polvos inhalables de acuerdo con la divulgación

que contiene la sustancia activa pueden consistir únicamente en las sustancias activas mencionadas anteriormente o en una mezcla de las sustancias activas mencionadas anteriormente con excipiente fisiológicamente aceptable.

- 5 Estos polvos inhalables pueden incluir monosacáridos (por ejemplo, glucosa o arabinosa), disacáridos (por ejemplo, lactosa, sacarosa, maltosa), oligo y polisacáridos (por ejemplo, dextranos), polialcoholes (por ejemplo, sorbitol, manitol, xilitol), sales (por ejemplo, cloruro de sodio, carbonato de calcio) o mezclas de estos entre sí. Se usan adecuadamente mono o disacáridos, el uso de lactosa o glucosa, particularmente, pero no exclusivamente, en forma de sus hidratos.
- 10 Las partículas para la deposición en el pulmón requieren un tamaño de partícula inferior a 10 micrómetros, tal como de 1 a 9 micrómetros, por ejemplo, de 1 a 5 μm . El tamaño de partícula del principio activo (como el anticuerpo o fragmento) es de primordial importancia.
- 15 Los gases propulsores que se pueden usar para preparar los aerosoles inhalables son conocidos en la técnica. Los gases propulsores adecuados se seleccionan entre hidrocarburos tales como n-propano, n-butano o isobutano y halohidrocarburos tales como derivados clorados y/o fluorados de metano, etano, propano, butano, ciclopropano o ciclobutano. Los gases propulsores mencionados anteriormente se pueden usar solos o en mezclas de los mismos.
- 20 Los gases propulsores particularmente adecuados son los derivados de alcano halogenados seleccionados de entre TG11, TG12, TG134a y TG227. De los hidrocarburos halogenados mencionados anteriormente, TG134a (1,1,1,2-tetrafluoroetano) y TG227 (1,1,1,2,3,3,3-heptafluoropropano) y sus mezclas son particularmente adecuados.
- 25 Los aerosoles inhalables que contienen gas propulsor también pueden contener otros ingredientes como cosolventes, estabilizantes, agentes tensioactivos (tensioactivos), antioxidantes, lubricantes y medios para ajustar el pH. Todos estos ingredientes son conocidos en la técnica.
- 30 Los aerosoles inhalables que contienen gas propulsor de acuerdo con la divulgación pueden contener hasta un 5 % en peso de sustancia activa. Los aerosoles de acuerdo con la divulgación contienen, por ejemplo, del 0,002 al 5 % en peso, del 0,01 al 3 % en peso, del 0,015 al 2 % en peso, del 0,1 al 2 % en peso, del 0,5 al 2 % en peso o del 0,5 al 1 % en peso de principio activo.
- 35 Alternativamente, las administraciones tópicas al pulmón también pueden ser mediante la administración de una solución líquida o una formulación en suspensión, por ejemplo, empleando un dispositivo como un nebulizador, por ejemplo, un nebulizador conectado a un compresor (por ejemplo, el nebulizador Pari LC-Jet Plus(R) conectado a un compresor Pari Master(R) fabricado por Pari Respiratory Equipment, Inc., Richmond, Va.).
- 40 El anticuerpo de la invención se puede administrar disperso en un disolvente, por ejemplo, en forma de una solución o una suspensión. Puede suspenderse en una solución fisiológica adecuada, por ejemplo, solución salina u otro disolvente farmacológicamente aceptable o una solución tamponada. Las soluciones tamponadas conocidas en la técnica pueden contener de 0,05 mg a 0,15 mg de edetato disódico, de 8,0 mg a 9,0 mg de NaCl, de 0,15 mg a 0,25 mg de polisorbato, de 0,25 mg a 0,30 mg de ácido cítrico anhidro y de 0,45 mg a 0,55 mg de citrato de sodio por 1 ml de agua para alcanzar un pH de aproximadamente de 4,0 a 5,0. Una suspensión puede emplear, por ejemplo, un anticuerpo liofilizado.
- 45 Las suspensiones terapéuticas o formulaciones en solución también pueden contener uno o más excipientes. Los excipientes son bien conocidos en la técnica e incluyen tampones (por ejemplo, tampón citrato, tampón de fosfato, tampón de acetato y tampón de bicarbonato), aminoácidos, urea, alcoholes, ácido ascórbico, fosfolípidos, proteínas (por ejemplo, albúmina de suero), EDTA, cloruro de sodio, liposomas, manitol, sorbitol y glicerol. Las soluciones o suspensiones se pueden encapsular en liposomas o microesferas biodegradables. La formulación generalmente se proporcionará en una forma sustancialmente estéril empleando procesos de fabricación estériles.
- 50 Esto puede incluir la producción y la esterilización mediante filtración del disolvente/solución tamponada utilizada para la formulación, la suspensión aséptica del anticuerpo en la solución del disolvente tamponado estéril y la administración de la formulación en recipientes estériles mediante métodos familiares para los expertos en la técnica.
- 55 La formulación nebulizable de acuerdo con la presente divulgación puede proporcionarse, por ejemplo, como unidades de dosis única (por ejemplo, recipientes o viales de plástico sellados) envasados en sobres de papel de aluminio. Cada vial contiene una dosis unitaria en un volumen, por ejemplo, 2 ml, de disolvente/solución tamponada.
- 60 Los anticuerpos desvelados en el presente documento pueden ser adecuados para el suministro mediante nebulización.
- 65 También se prevé que el anticuerpo de la presente invención se pueda administrar mediante el uso de terapia génica. Con el fin de lograr esto, las secuencias de ADN que codifican las cadenas pesadas y ligeras de la molécula de anticuerpo bajo el control de componentes de ADN apropiados se introducen en un paciente de tal manera que

las cadenas de anticuerpo se expresan a partir de las secuencias de ADN y se ensamblan *in situ*.

La presente invención también proporciona una molécula de anticuerpo (o composiciones que la comprenden) para su uso en el control de enfermedades autoinmunitarias, por ejemplo, encefalomiелitis aguda diseminada (ADEM), leucoencefalitis hemorrágica necrotizante aguda, enfermedad de Addison, agammaglobulinemia, alopecia areata, amiloidosis, vasculitis asociada a ANCA, espondilitis anquilosante, nefritis anti-GBM/anti-TBM, síndrome antifosfolípido (APS), angioedema autoinmunitario, anemia aplásica autoinmunitaria, disautonomía autoinmunitaria, hepatitis autoinmunitaria, hiperlipidemia autoinmunitaria, inmunodeficiencia autoinmunitaria, enfermedad del oído interno autoinmunitaria (AIED), miocarditis autoinmunitaria, pancreatitis autoinmunitaria, retinopatía autoinmunitaria, púrpura trombocitopénica autoinmunitaria (ATP), enfermedad tiroidea autoinmunitaria, urticaria autoinmunitaria, neuropatías axonales y nales, enfermedad de Baló, enfermedad de Behçet, penfigoide ampolloso, cardiomiopatía, enfermedad de Castleman, enfermedad celíaca, enfermedad de Chagas, polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP), osteomielitis multifocal recurrente crónica (CRMO), síndrome de Churg-Strauss, pénfigo cicatricial/pénfigo mucosal benigno, enfermedad de Crohn, síndrome de Cogan, enfermedad de las aglutininas frías, bloqueo cardíaco congénito, miocarditis coxsackie, enfermedad de CREST, crioglobulinemia mixta esencial, neuropatías desmielinizantes, dermatitis herpetiforme, dermatomiositis, enfermedad de Devic (neuromielitis óptica), cardiomiopatía dilatada, lupus discoide, síndrome de Dressler, endometriosis, fibrosis angiocéntrica eosinófila, fascitis eosinófila, eritema nudoso, encefalomiелitis alérgica experimental, síndrome de Evans, alveolitis fibrosante, arteritis de células gigantes (arteritis temporal), glomerulonefritis, síndrome de Goodpasture, granulomatosis con poliangitis (GPA) véase Wegener's, enfermedad de Graves, síndrome de Guillain-Barre, Encefalitis de Hashimoto, tiroiditis de Hashimoto, anemia hemolítica, púrpura de Henoch-Schonlein, herpes gestacional, hipogammaglobulinemia, nefritis tubulointestinal hipocomplementémica idiopática, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), nefropatía por IgA, enfermedad relacionada con IgG4, enfermedad esclerosante relacionada con IgG4, lipoproteínas inmunorreguladoras, aneurisma aórtico inflamatorio, pseudotumor inflamatorio, miositis por cuerpos de inclusión, diabetes dependiente de insulina (tipo I), cistitis intersticial, artritis juvenil, diabetes juvenil, síndrome de Kawasaki, tumor de Kuttner, síndrome de Lambert-Eaton, vasculitis leucocitoclástica, liquen plano, liquen escleroso, conjuntivitis leñosa, enfermedad por IgA lineal (LAD), lupus (SLE), enfermedad de Lyme, crónica, fibrosis del mediastino, enfermedad de Meniere, poliangeítis microscópica, síndrome de Mikulicz, enfermedad del tejido conectivo mixto (MCTD), úlcera de Mooren, enfermedad de Mucha-Habermann, fibroesclerosis multifocal, escleritis múltiple, miastenia grave, miositis, narcolepsia, neuromielitis óptica (Devic), neutropenia, penfigoide cicatricial ocular, neuritis óptica, enfermedad de Ormond (fibrosis retroperitoneal), reumatismo palindrómico, PANDAS (trastornos neuropsiquiátricos pediátricos autoinmunitarios asociados con Streptococcus), degeneración cerebelosa paraneoplásica, polineuropatías paraproteínémicas, hemoglobinuria paroxística nocturna (HPN), síndrome de Parry Romberg, síndrome de Parsonnage-Turner, Pars planitis (uveítis periférica), pénfigo vulgar, periaortitis, periartritis, neuropatía periférica, encefalomiелitis perivascular, anemia perniciosa, síndrome de POEMS, poliarteritis nodosa, síndromes poliglandulares autoinmunitarios tipo I, II y III, polimialgia reumática, polimiositis, síndrome de infarto post-miocardio, síndrome postpericardiotomía, dermatitis de progesterona, cirrosis biliar primaria, colangitis esclerosante primaria, psoriasis, artritis psoriásica, fibrosis pulmonar idiopática, pioderma gangrenoso, aplasia pura de glóbulos rojos, fenómeno de Raynaud, distrofia simpática refleja, síndrome de Reiter, policondritis recurrente, síndrome de las piernas inquietas, fibrosis retroperitoneal (enfermedad de Ormond), fiebre reumática, artritis reumatoide, tiroiditis de Riedel, sarcoidosis, Síndrome de Schmidt, escleritis, esclerodermia, síndrome de Sjogren, autoinmunidad testicular y de esperma, síndrome del hombre rígido, endocarditis bacteriana subaguda (SBE), síndrome de Susac, oftalmía simpática, arteritis de Takayasu, arteritis temporal/arteritis de gigantocitos, púrpura trombocitopénica trombótica (TTP), síndrome de Tolosa-Hunt, miелitis transversa, colitis ulcerosa, enfermedad indiferenciada del tejido conjuntivo (UCTD), uveítis, vasculitis, dermatosis vesiculobullosa, vitíligo, macroglobulinemia de Waldenström, anemia hemolítica idiopática cálida y granulomatosis de Wegener (ahora denominada granulomatosis con poliangitis (GPA)).

En una realización, los anticuerpos o fragmentos de acuerdo con la divulgación se emplean en el tratamiento o profilaxis de epilepsia o convulsiones.

En una realización, los anticuerpos o fragmentos de acuerdo con la divulgación se emplean en el tratamiento o profilaxis de escleritis múltiple.

En la realización, los anticuerpos y fragmentos de la divulgación se emplean en enfermedades/indicaciones autoinmunitarias que incluyen:

- Desapareamiento del donante de trasplante debido a los anticuerpos anti-HLA
- Trombocitopenia autoinmunitaria fetal y neonatal, FNAIT (o trombocitopenia autoinmunitaria neonatal, NAITP o NAIT o NAT, o trombocitopenia autoinmunitaria feto-materna, FMAITP o FMAIT).

Las indicaciones adicionales incluyen: eliminación rápida de fármacos biofarmacéuticos que contienen Fc de pacientes humanos y combinación de terapia anti-FcRn con otras terapias - IVIg, Rituxan, plasmaféresis. Por ejemplo, la terapia anti-FcRn puede emplearse después de la terapia con Rituxan.

En una realización, los anticuerpos y fragmentos de la divulgación se emplean en un trastorno neurológico tal como:

- polineuropatía desmielinizante inflamatoria crónica (CIDP)
- síndrome de Guillain-Barre
- polineuropatías paraproteínemicas
- neuromielitis óptica (NMO, trastornos del espectro NMO o enfermedades del espectro NMO), y
- miastenia grave.

En una realización, los anticuerpos y fragmentos de la divulgación se emplean en un trastorno dermatológico tal como:

- penfigoide ampolloso
- pénfigo vulgar
- vasculitis asociada a ANCA
- cardiomiopatía dilatada

En una realización, los anticuerpos y fragmentos de la divulgación se emplean en un trastorno hematológico de inmunología tal como:

- púrpura trombocitopénica idiopática (ITP)
- púrpura trombocitopénica trombótica (TTP)
- anemia hemolítica idiopática cálida
- síndrome de Goodpasture
- desapareamiento del donante de trasplante debido a los anticuerpos anti-HLA

En una realización, el trastorno se selecciona de miastenia grave, neuromielitis óptica, CIDP, síndrome de Guillain-Barre, Polineuropatía para-proteinémica, epilepsia refractaria, ITP/TTP, anemia hemolítica, síndrome de Goodpasture, desapareamiento ABO, nefritis por lupus, vasculitis renal, esclerodermia, alveolitis fibrosante, miocardiopatía dilatada, enfermedad de Grave, diabetes de tipo 1, diabetes autoinmunitaria, Pénfigo, esclerodermia, Lupus, vasculitis asociadas con anticuerpos ANCA, dermato-miositis, enfermedad de Sjogren y artritis reumatoide.

En una realización, el trastorno se selecciona de síndrome poliendocrino autoinmunitario de tipo 1 (APECED o síndrome de Whitaker) y 2 (síndrome de Schmidt); alopecia universalis; crisis miasténica; crisis tiroidea; enfermedad ocular asociada a la tiroides; oftalmopatía tiroidea; diabetes autoinmunitaria; autoanticuerpos asociados con encefalitis y/o encefalopatía; pénfigo filiar; epidermolisis ampollosa; dermatitis herpetiforme; corea de Sydenham; neuropatía axonal motora aguda (AMAN); síndrome de Miller-Fisher; neuropatía motora multifocal (MMN); opsoclono; miopatía inflamatoria; síndrome de Isaac (neuromiotonía autoinmunitaria), síndromes paraneoplásicos y encefalitis límbica.

Los anticuerpos y fragmentos de acuerdo con la presente divulgación pueden emplearse en tratamiento o profilaxis.

La presente divulgación también proporciona un método para reducir la concentración de anticuerpos no deseados en un individuo que comprende las etapas de administrar a un individuo una dosis terapéuticamente eficaz de un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a FcRn del mismo descrito en el presente documento.

En una realización, la presente divulgación comprende el uso de anticuerpos o fragmentos de los mismos como reactivo para diagnóstico, por ejemplo, conjugado con una molécula informadora. Por lo tanto, se proporciona un anticuerpo o fragmento de acuerdo con la divulgación que está marcado. En un aspecto, se proporciona una columna que comprende un anticuerpo o fragmento de acuerdo con la divulgación.

Por lo tanto, se proporciona un anticuerpo anti-FcRn o un fragmento de unión a FcRn para su uso como reactivo para usos tales como:

- 1) purificación de la proteína FcRn (o fragmentos de la misma) - se conjuga con una matriz y se usa como una columna de afinidad, o (como una forma modificada de anti-FcRn) como agente precipitante (por ejemplo, como una forma modificada con un dominio reconocido por otra molécula, que puede modificarse mediante la adición de un Fc (o producirse como IgG de longitud completa), que se precipita opcionalmente mediante un reactivo anti-Fc)
- 2) detección y/o cuantificación de FcRn sobre células o en células, vivas o fijas (células *in vitro* o en tejidos o secciones celulares). Los usos para esto pueden incluir la cuantificación de FcRn como biomarcador, para seguir el efecto del tratamiento anti-FcRn. Para estos fines, el candidato podría usarse en una forma modificada (por ejemplo, mediante la adición de un dominio Fc, como en la IgG de longitud completa, o alguna otra fracción, como una proteína de fusión genética o conjugado químico, tal como la adición de un marcador fluorescente utilizado para fines de detección).
- 3) purificación o clasificación de las células portadoras de FcRn marcadas mediante la unión al candidato modificado de maneras ejemplificadas en (1) y (2).

La presente divulgación también proporciona un ensayo adecuado para evaluar la capacidad de una molécula de prueba, tal como una molécula de anticuerpo, para inhibir la actividad de FcRn y, en particular, la capacidad de las células para reciclar IgG. Dicho ensayo puede ser útil para identificar inhibidores de la actividad de FcRn, tales como moléculas de anticuerpo o moléculas pequeñas y, como tal, también puede ser útil como un ensayo de liberación discontinua en la producción de dicho inhibidor.

En un aspecto, se proporciona un ensayo adecuado para evaluar la capacidad de una molécula de prueba, tal como una molécula de anticuerpo, para inhibir la actividad de FcRn humano y, en particular, la capacidad de FcRn humano para reciclar IgG, en el que el método comprende las etapas de:

- a) revestir una superficie de células de mamíferos no humanos que expresan de forma recombinante la cadena alfa de FcRn humano y la microglobulina $\beta 2$ humana ($\beta 2M$),
- b) poner en contacto las células en condiciones levemente ácidas, tal como aproximadamente pH 5,9, con una molécula de prueba y una IgG para ser reciclada por la célula durante un período de tiempo suficiente para permitir la unión de la molécula de prueba y la IgG a FcRn, agregando opcionalmente la molécula de prueba antes de que la IgG sea reciclada e incubar durante un período de tiempo suficiente para permitir la unión de la molécula de prueba a FcRn.
- c) lavar con un tampón ligeramente ácido, y
- d) detectar la cantidad de IgG internalizada y/o reciclada por las células.

En un aspecto, se proporciona un ensayo adecuado para evaluar la capacidad de una molécula de prueba, tal como una molécula de anticuerpo, para inhibir la actividad de FcRn humano y, en particular, la capacidad de FcRn humano para reciclar IgG, en el que el método comprende las etapas de:

- a) revestir una superficie de células de mamíferos no humanos que expresan de forma recombinante la cadena alfa de FcRn humano y la microglobulina $\beta 2$ humana ($\beta 2M$),
- b) poner en contacto las células en condiciones levemente ácidas, tal como aproximadamente pH 5,9, con una molécula de anticuerpo de prueba y una IgG para ser reciclada por la célula durante un período de tiempo suficiente para permitir la unión de la molécula de anticuerpo de prueba y la IgG a FcRn, agregando opcionalmente la molécula de anticuerpo de prueba antes de que la IgG sea reciclada e incubar durante un período de tiempo suficiente para permitir la unión de la molécula de anticuerpo de prueba a FcRn.
- c) lavar con un tampón ligeramente ácido para eliminar la IgG no unida y la molécula de anticuerpo de prueba, y
- d) detectar la cantidad de IgG reciclada por las células.

En un aspecto, se proporciona un ensayo adecuado para evaluar la capacidad de una molécula de prueba, tal como una molécula de anticuerpo, para inhibir la actividad de FcRn humano y, en particular, la capacidad de FcRn humano para reciclar IgG, en el que el método comprende las etapas de:

- a) revestir una superficie de células de mamíferos no humanos que expresan de forma recombinante la cadena alfa de FcRn humano y la microglobulina $\beta 2$ humana ($\beta 2M$),
- b) poner en contacto las células en condiciones levemente ácidas, tal como aproximadamente pH 5,9, con una molécula de anticuerpo de prueba y una IgG para ser reciclada por la célula durante un período de tiempo suficiente para permitir la unión de la molécula de anticuerpo de prueba y la IgG a FcRn, agregando opcionalmente la molécula de anticuerpo de prueba antes de que la IgG sea reciclada e incubar durante un período de tiempo suficiente para permitir la unión de la molécula de anticuerpo de prueba a FcRn.
- c) lavar con un tampón ligeramente ácido para eliminar la IgG no unida y la molécula de anticuerpo de prueba,
- d) incubar las células en un tampón neutro, tal como aproximadamente pH 7,2
- e) detectar la cantidad de IgG reciclada por las células mediante la determinación de la cantidad de IgG liberada en el sobrenadante.

Las células adecuadas incluyen células de riñón canino Madin-Darby (MDCK) II. La transfección de células MDCKII con cadena alfa de FcRn humano y $\beta 2$ microglobulina humana ($\beta 2M$) ha sido descrita previamente por Claypool et al., 2002, Journal of Biological Chemistry, 277, 31, 28038-28050. Este documento también describe el reciclado de IgG mediante estas células transfectadas.

Los medios para soportar las células durante las pruebas incluyen medios completos que comprenden MEM (Gibco n.º 21090-022), 1 x aminoácidos no esenciales (Gibco 11140-035), 1 x piruvato de sodio (Gibco n.º 11360-039) y L-glutamina (Gibco n.º 25030-024).

Se puede preparar un lavado ácido tomando HBSS+ (PAA n.º H15-008) y añadiendo MES 1 M hasta que se alcance un pH de 5,9 +/- 0,5. También se puede añadir BSA alrededor del 1 % (Sigma n.º A9647).

Se puede preparar un lavado neutro tomando HBSS+ (PAA n.º H15-008) y añadiendo Hepes 10 M hasta alcanzar un pH 7,2 +/- 0,5. También se puede añadir BSA alrededor del 1 % (Sigma n.º A9647).

El lavado de las células con tampón ácido elimina el anticuerpo de prueba no unido y la IgG no unida y permite que se realicen análisis adicionales. Las condiciones ácidas utilizadas en la etapa (b) fomentan la unión de la IgG a FcRn y la internalización y el reciclado de la misma.

- 5 La cantidad de anticuerpo de prueba o fragmento e IgG solo en la superficie de las células puede determinarse mediante el lavado de las células con lavado neutro y el análisis del sobrenadante/lavados para detectar la cantidad de anticuerpo de prueba o IgG. Es importante destacar que no se emplea un tampón de lisis. Para determinar la cantidad de IgG internalizada por las células, el anticuerpo se puede eliminar primero de la superficie de la célula con un lavado neutro y las células se lisan con un tampón de lisis y luego se analizan los contenidos internos. Para
10 determinar la cantidad de IgG reciclada por las células, las células se incuban en condiciones neutras durante un período de tiempo adecuado y el tampón circundante se analiza para determinar el contenido de IgG. Si se requiere la superficie y el contenido de anticuerpos internos de la célula, entonces la célula se puede lavar con lavado ácido para mantener la presencia del anticuerpo en la superficie celular, seguido de la lisis celular y el análisis del material combinado.

- 15 Cuando se desea medir tanto la internalización como el reciclado de las muestras de IgG, se ejecutan por duplicado y las pruebas de internalización y reciclado se realizan por separado.

- 20 Un tampón de lisis adecuado incluye NaCl 150 mM, Tris 20 mM, pH 7,5, EDTA 1 mM, EGTA 1 mM, Triton-X 100 al 1 %, por cada 10 ml de inhibidores de la proteasa/inhibidores de fosfato añadidos como se describe en las pautas del fabricante.

- 25 Normalmente, la IgG que se va a reciclar está marcada, en un ejemplo, se puede usar una IgG humana biotinilada. Luego se puede detectar la IgG empleando, por ejemplo, 25 ml de anticuerpo de detección de estreptavidina marcado con azufre (como MSD n.º r32ad-5) a 0,2 µg/ml de tampón de inhibición de MSD. El tampón de inhibición puede comprender Tris 500 mM, pH 7,5. NaCl 1,5 M y Tween-20 al 0,2 % y BSA al 1,5 %.

Alternativamente, la IgG se puede marcar previamente con un fluoróforo o un marcador similar.

- 30 En una realización, una superficie adecuada es una placa o pocillo de plástico, tal como una placa de 96 pocillos o similar, un portaobjetos de vidrio o una membrana. En un ejemplo, las células se recubren sobre la superficie a una densidad que da como resultado la formación de una monocapa.

- 35 En una realización, el ensayo descrito en el presente documento no es una medida de la transcitosis de un anticuerpo de arriba a abajo a través de una membrana con un gradiente de pH en la misma, por ejemplo, condiciones ácidas en un lado de la membrana y condiciones neutras en la parte inferior de la membrana.

- 40 En un ejemplo, el anticuerpo de prueba o fragmento y la IgG se pueden incubar con las células en la etapa (b) durante aproximadamente 1 hora, por ejemplo, a temperatura ambiente en condiciones ácidas para permitir la unión.

- 45 En un ejemplo, el anticuerpo de prueba o fragmento se pueden incubar con las células en la etapa (b) durante aproximadamente 1 hora, por ejemplo, a temperatura ambiente en condiciones ácidas para permitir la unión antes de la adición de la IgG a reciclar. Posteriormente, la IgG a reciclar por la célula puede incubarse con las células en la etapa (b) durante aproximadamente 1 hora, por ejemplo, a temperatura ambiente en condiciones ácidas para permitir la unión.

Las condiciones neutras facilitan la liberación de IgG en el sobrenadante.

- 50 Comprender en el contexto de la presente especificación tiene el propósito de incluir el significado.

Donde técnicamente se pueden combinar realizaciones apropiadas de la invención.

- 55 Las realizaciones se describen en el presente documento como que comprenden ciertas características/elementos. La divulgación también se extiende a realizaciones separadas que consisten o consisten esencialmente en dichas características/elementos.

La presente invención se describe adicionalmente a modo de ilustración solamente en los siguientes ejemplos, que se refieren a las Figuras adjuntas, en los que:

- 60 La **Figura 1** muestra ciertas secuencias de aminoácidos y polinucleótidos.
La **Figura 2** muestra alineaciones de ciertas secuencias.
La **Figura 3** muestra una comparación de la unión en MDCK II humana para un fragmento Fab' de acuerdo con la presente divulgación y una versión PEGilada del mismo
La **Figura 4** muestra un fragmento Fab' de acuerdo con la presente divulgación y una versión PEGilada del mismo que inhibe el reciclado de IgG en células MDCK II
65 La **Figura 5** muestra un fragmento Fab' PEGilado de acuerdo con la presente divulgación que inhibe la

- transcitosis de IgG de origen apical a basolateral en células MDCK II
- La **Figura 6** muestra una comparación de la unión de MDCK II de macaco para un fragmento Fab' de acuerdo con la presente divulgación y una versión PEGilada del mismo
- La **Figura 7** muestra un fragmento Fab' PEGilado de acuerdo con la presente divulgación que inhibe el reciclado de IgG en células MDCK II para versiones de seres humanos y macacos de las mismas
- La **Figura 8** muestra el efecto de una dosis única de una molécula Fab' PEGilada de acuerdo con la divulgación sobre los niveles de IgG en plasma en macacos
- La **Figura 9** muestra el efecto de cuatro dosis semanales de una molécula Fab' PEGilada de acuerdo con la divulgación sobre los niveles de IgG en plasma
- La **Figura 10** muestra una representación esquemática de la función de reciclado de anticuerpos de FcRn inhibida mediante una proteína de inhibición
- La **Figura 11** muestra el análisis de inhibición de IgG humana basada en citometría de flujo utilizando anticuerpos IgG gamma 1 purificados
- La **Figura 12** muestra las dosis IV de Fab'PEG únicas/intermitentes en la farmacodinámica de IgG normal en macacos de 20 mg/kg los días 1 y 67
- La **Figura 13** muestra las dosis IV de Fab'PEG:repetidas en la farmacodinámica de IgG normal en macacos de 4 x 20 o 100 mg/kg por semana
- La **Figura 14** muestra las dosis IV de Fab'PEG únicas/intermitentes en la farmacodinámica de IgG normal en macacos a -20 mg/kg y 100 mg/kg los días 1 y 67
- La **Figura 15** muestra los niveles de IgG en plasma en 4 macacos después de 2 dosis IV de 20 mg/kg de Fab'PEG de 1519.g57
- La **Figura 16** muestra los niveles de IgG en plasma en 4 macacos que reciben 10 dosis IV de 20 mg/kg de Fab'PEG de 1519.g57, una cada 3 días
- La **Figura 17** muestra el efecto de dos dosis IV de 30 mg/kg de IgG4P de 1519.g57 sobre la IgG en plasma endógena en macacos
- La **Figura 18** muestra el efecto de 30 mg/kg si van seguidas de 41 dosis diarias de 5 mg/kg de IgG4P de 1519.g57 en IgG en plasma en macacos
- La **Figura 19** muestra el resultado de la dosificación diaria con vehículo en la IgG plasmática en macacos
- La **Figura 20** muestra el aclaramiento aumentado de hlgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con Fab'PEG de CA170_01519.g57 o PBS IV
- La **Figura 21** muestra el aclaramiento aumentado de hlgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con IgG1 o IgG4 de CA170_01519.g57 o PBS IV
- La **Figura 22** muestra el aclaramiento aumentado de hlgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con Fab'- albúmina de suero humano de CA170_01519.g57 o PBS IV
- La **Figura 23** muestra el aclaramiento aumentado de hlgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con FabFv de CA170_01519.g57 o PBS IV
- La **Figura 24** muestra el aclaramiento aumentado de hlgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con Fab o Fab'PEG de CA170_01519.g57 o PBS IV
- La **Figura 25** muestra una proteína de fusión de anticuerpos biespecíficos de la presente invención, denominada Fab-dsFv.

Ejemplos

- Las siguientes inmunizaciones se realizaron para generar material para el cultivo de linfocitos B y la detección de anticuerpos:
- las ratas Sprague Dawley se inmunizaron con tres dosis de fibroblastos de ratón NIH3T3 que expresan conjuntamente FcRn humano mutante (L320A; L321A) (Ober et al., 2001 Int. Immunol. 13, 1551-1559) y β 2M de ratón con un cuarto refuerzo final del dominio extracelular de FcRn humano.
- Los sueros se monitorizaron tanto para la unión a FcRn mutante en células HEK-293 como para su capacidad para evitar la unión de IgG humana marcada con Alexafluor 488. Ambos métodos se realizaron por citometría de flujo. Para la unión, se utilizaron reactivos secundarios específicos anti-Fc de ratón o rata marcados con ficoeritrina (PE) para revelar la unión de IgG en los sueros.
- Los cultivos de linfocitos B se prepararon utilizando un método similar al descrito por Zubler *et al.* (1985). En resumen, se cultivaron linfocitos B a una densidad de aproximadamente 5000 células por pocillo en placas de cultivo de tejidos de 96 pocillos con código de barras con 200 μ l/pocillo de medio RPMI 1640 (Gibco BRL) complementado con FCS al 10 % (PAA laboratories Ltd), HEPES al 2 % (Sigma Aldrich), L-Glutamina al 1 % (Gibco BRL), solución de penicilina/estreptomicina al 1 % (Gibco BRL), β -mercaptoetanol al 0,1 % (Gibco BRL), sobrenadante de cultivo de esplenocitos de conejo activado al 2-5 % y células de timoma murino EL-4-B5 irradiadas con radiación gamma (5×10^4 /pocillo) durante siete días a 37 °C en una atmósfera de CO₂ al 5 %.
- La presencia de anticuerpos específicos de FcRn en sobrenadantes de cultivos de linfocitos B se determinó utilizando un ensayo de unión homogéneo basado en fluorescencia utilizando células HEK-293 transfectadas transitoriamente con FcRn mutante (estabilizado en la superficie) como fuente de antígeno diana. Se transfirieron 10 μ l de sobrenadante de placas de cultivo de tejido de 96 pocillos con código de barras a placas de ensayo de pared

negra de 384 pocillos con código de barras que contenían 5000 células HEK-293 transfectadas por pocillo utilizando un manipulador de líquidos Matrix Platemate. La unión se reveló con un conjugado de cabra Cy-5 específico para Fc γ anti-IgG de rata o ratón (Jackson). Las placas se leyeron en un sistema de detección celular Applied Biosystems 8200. De las placas de cultivo de 3800 x 96 pocillos, que representan 38 animales inmunizados diferentes, se

5 identificaron 9800 aglutinantes anti-FcRn humano. Se estimó que esto representaba la detección de aproximadamente 2,5 billones de linfocitos B.

Después de la selección primaria, los sobrenadantes positivos se consolidaron en placas maestras con código de barras de 96 pocillos utilizando un robot de recolección de golpes Aviso Onyx y los linfocitos B en placas de cultivo

10 celular congeladas a -80 °C. Las placas maestras se seleccionaron luego en un ensayo de Biacore para identificar los pocillos que contienen anticuerpos de alta afinidad y aquellos que inhibían la unión de la IgG humana a FcRn (véase más abajo).

El análisis de interacción biomolecular utilizando tecnología de resonancia de plasmón superficial (SPR) se realizó

15 en un sistema BIACore T200 (GE Healthcare). Se inmovilizó gamma Fc de cabra anti-IgG de rata (Chemicon International Inc.) en NaAc 10 mM, tampón de pH 5 en un chip de sensor CM5 mediante química de acoplamiento de amina a un nivel de captura de aprox. 19500 unidades de respuesta (UR) que utilizan HBS-EP+ como tampón en ejecución. Se utilizó fosfato 50 mM, pH 6 + NaCl 150 mM como tampón de ejecución para el ensayo de afinidad e inhibición. Los sobrenadantes del cultivo de linfocitos B se diluyeron 1 en 5 en fosfato 200 mM, pH 6 + NaCl 150 mM.

20 Se usó una inyección de 600 s de sobrenadante de linfocitos B diluidos a 5 μ l/min para la captura mediante la anti-IgG inmovilizada de rata, Fc. Se inyectó FcRn humano a 100 nM sobre el sobrenadante del cultivo de linfocitos B capturado durante 180 s a 30 μ l/min seguido de una disociación de 360 s. Se inyectó IgG humana (Jackson ImmunoResearch) durante 60 s con 180 s de disociación a 30 μ l/min.

25 Los datos se analizaron utilizando el software de evaluación T200 (versión 1.0) para determinar las constantes de afinidad (K_D) de los anticuerpos y determinar aquellos que inhiben la unión de IgG.

Como un ensayo alternativo, los sobrenadantes de la placa maestra también se examinaron en un ensayo de inhibición de IgG humana basado en células. Se añadieron 25 μ l de sobrenadante de cultivo de linfocitos B de

30 placas maestras a una placa de polipropileno de 96 pocillos con fondo en U. Luego se añadieron células HEK-293 transfectadas con hFcRn mutantes (50.000 células por pocillo en 25 μ l de PBS pH 6/FCS al 1 %) a cada pocillo y se incubaron durante 1 hora a 4 °C. Las células se lavaron dos veces con 150 μ l de medio PBS. Las células se resuspendieron luego en 50 μ l/pocillo de medio PBS/FCS que contenía IgG humana marcada con Alexafluor 488 o 649 a 7,5 μ g/ml y se incubaron 1 hora a 4 °C. Las células luego se lavaron dos veces con 150 μ l de medio y luego se

35 resuspendieron en 35 μ l/pocillo de medio PBS/FCS que contenía formaldehído al 1 % como fijador. Las placas se leyeron luego en un citómetro de flujo FACS Canto 2. Ejemplo de datos se da en la Figura 11.

Para permitir la recuperación de los genes de la región variable del anticuerpo de una selección de pocillos de interés, se tuvo que realizar un paso de desconvolución para permitir la identificación de los linfocitos B específicos

40 de antígeno en un pocillo dado que contenía una población heterogénea de linfocitos B. Esto se logró utilizando el método de los focos fluorescentes. En resumen, los linfocitos B secretadores de inmunoglobulinas de un pocillo positivo se mezclaron con perlas de estreptavidina (New England Biolabs) recubiertas con FcRn humano biotinilado y una dilución final de 1:1200 de un conjugado de cabra FITC específico de fragmento anti-Fc γ de rata o ratón (Jackson). Después de la incubación estática a 37 °C durante 1 hora, se pudieron identificar linfocitos B específicos

45 de antígeno debido a la presencia de un halo fluorescente que rodea ese linfocito B. Estos linfocitos B individuales, identificados mediante un microscopio Olympus, se seleccionaron luego con un micromanipulador Eppendorf y se depositaron en un tubo de PCR. Se generaron focos fluorescentes a partir de 268 pocillos seleccionados.

Los genes de la región variable del anticuerpo se recuperaron de células individuales mediante la reacción en cadena de la polimerasa de transcripción inversa (RT)-PCR utilizando cebadores específicos de región variable de

50 cadena pesada y ligera. Se realizaron dos rondas de PCR en un robot de manejo de líquido Aviso Onyx, con la 2ª PCR anidada que incorpora sitios de restricción en los extremos 3' y 5' permitiendo la clonación de las regiones variables en un vector de expresión de mamíferos Kappa (VL) de ratón o IgG γ 1 (VH) de ratón. Las construcciones de cadena pesada y ligera emparejadas se cotransfectaron en células HEK-293 utilizando Fectin 293 (Invitrogen) y

55 se cultivaron en placas de 48 pocillos en un volumen de 1 ml. Después de 5-7 días de expresión, los sobrenadantes se recogieron y el anticuerpo se sometió a un examen adicional.

La PCR recuperó con éxito pares cognados de cadena ligera y pesada de linfocitos B individuales de 156 de los pocillos seleccionados. El análisis de secuencia de ADN de los genes clonados de la región variable identificó varias

60 familias únicas de anticuerpos recombinantes. Después de la expresión, se interrogaron los sobrenadantes transitorios tanto en la inhibición de FACS de IgG humana (descrito anteriormente) como en los ensayos de reciclado de IgG. En algunos casos, se produjo y probó IgG γ 1 de ratón purificada (los datos se marcaron en consecuencia).

El ensayo de reciclado usó células MDCK II (clon 34 como se describe en los Ejemplos 4 y 5 a continuación) que expresan en exceso FcRn humano y beta 2 microglobulina en placas a 25.000 células por pocillo de una placa de 96

pocillos. Estas se incubaron durante la noche a 37 °C, CO₂ al 5 %. Las células se lavaron con HBSS+ Ca/Mg pH 7,2 + BSA al 1 % y luego se incubaron con 50 µl de concentraciones variables de sobrenadante transitorio HEK-293 o anticuerpo purificado durante 1 hora a 37 °C, CO₂ al 5 %. Se eliminó el sobrenadante y se añadieron 500 ng/ml de IgG humana biotinilada (Jackson) en 50 µl de HBSS+ Ca/Mg pH 5,9 + BSA al 1 % a las células y se incubaron durante 1 hora a 37 °C, CO₂ al 5 %. Luego, las células se lavaron tres veces en HBSS+ Ca/Mg pH 5,9 y se añadieron a las células 100 µl de HBSS+ Ca/Mg pH 7,2 y se incubaron a 37 °C, CO₂ al 5 % durante 2 horas. El sobrenadante se eliminó de las células y se analizó para determinar la IgG total utilizando un ensayo MSD con un anticuerpo de captura anti-IgG humana (Jackson) y un anticuerpo revelador de marcador de estreptavidina-sulfo (MSD). La curva de inhibición se analizó mediante regresión no lineal para determinar los valores de CI₅₀.

Basándose en el rendimiento en estos ensayos, se seleccionó una familia de anticuerpos que comprende las seis CDR dadas en las SEQ ID NO 1 a 6. El anticuerpo CA170_01519 tuvo la mejor actividad y se seleccionó para la humanización.

Ejemplo 1 Método de humanización

El anticuerpo CA170_01519 se humanizó mediante el injerto de las CDR de las regiones V del anticuerpo de rata en los marcos de la región V del anticuerpo de la línea germinal humana. Con el fin de recuperar la actividad del anticuerpo, también se conservaron en la secuencia humanizada una serie de restos marco de las regiones V de rata. Estos restos se seleccionaron utilizando el protocolo descrito por Adair *et al.* (1991) (Humanised antibodies WO91/09967). Las alineaciones de las secuencias de la región V del anticuerpo (donante) de rata con las secuencias de la región V de la línea germinal humana (aceptora) se muestran en las Figuras 2A y 2B, junto con las secuencias humanizadas diseñadas. Las CDR injertadas desde la secuencia donante a la aceptora son las definidas por Kabat (Kabat *et al.*, 1987), con la excepción de CDR-H1 donde se usa la definición combinada de Chothia/Kabat (véase Adair *et al.*, 1991, Humanised antibodies. WO91/09967). La región V humana de VK1 2-1-(1) A30 más la región J de JK2 (V BASE, <http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) se eligió como aceptor para las CDR de cadena ligera. La región V humana de VH3 1-3 3-07 más la región J de JH4 J (V BASE, <http://vbase.mrc-cpe.cam.ac.uk/>) se eligió como aceptor para las CDR de cadena pesada.

Los genes que codifican una serie de variantes de las secuencias de la región V de la cadena ligera y pesada se diseñaron y estas se construyeron mediante un enfoque de síntesis automatizada por Entelechon GmbH. Se crearon variantes adicionales de ambas regiones V de cadena pesada y ligera mediante la modificación de los genes VH y VK mediante mutagénesis dirigida por oligonucleótidos. Estos genes se clonaron en varios vectores para permitir la expresión de Fab' de 1519 humanizados en células de mamíferos y *E. coli*. Las cadenas variantes, y combinaciones de las mismas, se evaluaron para determinar su expresión en *E. coli*, su potencia en relación con el anticuerpo parental, sus propiedades biofísicas y su aptitud para el procesamiento posterior, lo que llevó a la selección del injerto de cadena ligera gL20 y el injerto de cadena pesada gH20. Las secuencias de injerto gL20 y gH20 seleccionadas finales se muestran en las Figuras 2A y 2B, respectivamente. Este emparejamiento de la región V se denominó 1519.g57.

Los restos del marco de cadena ligera en el injerto gL20 son todos del gen de la línea germinal humana, con la excepción de los restos 36, 37 y 58 (numeración de Kabat), donde se conservan los restos donantes de Leucina (L36), Fenilalanina (F37) e Isoleucina (158), respectivamente. La retención de estos tres restos fue esencial para la potencia total de los Fab' humanizados. Los restos del marco de cadena pesada en el injerto gH20 son todos del gen de la línea germinal humana, con la excepción de los restos 3, 24, 76, 93 y 94 (numeración de Kabat), donde se conservan los restos donantes de Prolina (P3), Valina (V24), Serina (S76), Treonina (T93) y Treonina (T94), respectivamente. La retención de estos cinco restos fue importante para la potencia total de los Fab' humanizados.

Para la expresión en *E. coli*, los genes humanizados de la región V de cadena ligera y pesada se clonaron en el vector de expresión UCT pTTOD, que contiene ADN que codifica la región constante C-kappa humana (alotipo K1m3) y la región bisagra CH1 gamma-1 humana (alotipo G1m17). El gen FkpA de *E. coli* también se introdujo en el plásmido de expresión, ya que se descubrió que la coexpresión de esta proteína chaperona mejora el rendimiento de Fab' humanizado en la cepa MXE016 de *E. coli* (desvelada en el documento WO2011/086136) durante la fermentación continua, usando IPTG para inducir la expresión de Fab'. Las cadenas ligeras y pesadas de Fab' de 1519 y el polipéptido FkpA se expresaron a partir de un único multicistrón bajo el control del promotor tac inducible por IPTG.

Para la expresión en células de mamíferos, los genes de la región V de cadena ligera humanizada se clonaron en el vector de expresión de cadena ligera humana UCB-Celltech pMhCK, que contiene ADN que codifica la región constante de cadena Kappa humana (alotipo Km3). Los genes de la región V de cadena pesada humanizada se clonaron en el vector de expresión de cadena pesada gamma 4 humana UCB-Celltech pMhg4P DV, que contiene ADN que codifica la región constante de cadena pesada gamma-4 humana con la mutación estabilizadora de la bisagra S241P (Angal *et al.*, Mol Immunol. 1993, 30(1):105-8). La cotransfección de vectores de cadena ligera y pesada en células HEK293 en suspensión se logró usando 293 Fectina (12347-019 Invitrogen), y dio expresión de los anticuerpos 1519 recombinantes humanizados.

Ejemplo 1A Preparación del conjugado Fab'-PEG de 1519.g57

EL Fab' expresado en el periplasma de *E. coli* se extrajo de las células mediante extracción por calor. Fab' se purificó mediante purificación por afinidad con proteína G con una elución ácida. Fab' se redujo y PEGiló con PEG de 40 kDa (SUNBRIGHT GL2-400MA3). El PEG está unido covalentemente a través de un grupo de maleimida a uno o más grupos tiol en el fragmento de anticuerpo. La eficacia de la PEGilación se confirmó mediante SE-HPLC. El Fab'PEG se separó de los diFab' y Fab' no PEGilados mediante cromatografía de intercambio catiónico. Las fracciones se analizaron mediante SE-HPLC y SDS-PAGE. La agrupación se realizó para minimizar niveles de impurezas. La muestra final se concentró y se diafiltró en el tampón deseado.

Ejemplo 1B Preparación de Fab' de 1519.g57 (Anti-FcRn humano) conjugado con albúmina de suero humano

Fab' de 1519.g57 anti-FcRn humano se conjugó químicamente con albúmina de suero humano (derivado recombinante) que luego se usó para estudios en animales.

- Albúmina de suero humano: Recombumina de Novozyme (número de catálogo: 200-010) presentada como solución al 20 % p/v producida de forma recombinante en *Saccharomyces cerevisiae*.
- Fab' de 1519.g57: 30 mg/ml presentado en fosfato de sodio 0,1 M, EDTA 2 mM, pH 6,0 (tampón de reducción)
- 1,6-bismaleimidohexano (BMH) de Thermo fisher (número de catálogo 22330)

Reducción de albúmina:

La albúmina se redujo utilizando clorhidrato de cisteamina recién preparado (nº de catálogo Sigma: 30078) que se preparó en tampón de reducción. A la solución de albúmina, se añadió clorhidrato de cisteamina a un exceso molar de 10 veces y luego se incubó a 37 °C al baño de agua durante 30 minutos. Después de la reducción, la solución se desaló utilizando columnas PD10 (GE Healthcare n.º de catálogo 17-0851-01) para eliminar cualquier exceso de agente reductor.

Adición del enlazador BMH:

Se preparó una solución madre de 1,6-bismaleimidohexano en un vial de vidrio usando dimetilformamida. La solución se agitó en vórtex para asegurar la disolución completa de BMH.

Se añadió solución de BMH a la solución de albúmina reducida desalada en un exceso molar de 10 veces con respecto a la concentración de albúmina. La solución se incubó luego a 37 °C durante 30 minutos, seguido de una incubación durante la noche a temperatura ambiente en un rodillo para asegurar una mezcla adecuada. Se observó un precipitado blanco que se centrifugó utilizando una centrifuga de sobremesa.

Una vez completada la reacción, la solución se desalinizó utilizando columnas PD10.

Reducción de Fab' de 1519.g57

Fab' de 1519.g57 se redujo usando clorhidrato de cisteamina recién preparado (nº de catálogo Sigma: 30078) que se preparó en tampón de reducción. A la solución de Fab' de 1519.g57, se añadió clorhidrato de cisteamina a un exceso molar de 10 veces y luego se incubó a 37 °C al baño de agua durante 30 minutos. Después de la reducción, la solución se desaló utilizando columnas PD10 (GE Healthcare n.º de catálogo: 17-0851-01) para eliminar cualquier exceso de agente reductor.

Mezcla de Fab reducido y albúmina-BMH

Se añadieron cantidades iguales (en términos molares) de Fab' reducido y enlazador de albúmina y se incubaron a temperatura ambiente durante la noche en un mezclador de rodillos.

Purificación por afinidad:

La mezcla anterior se purificó luego por afinidad utilizando Blue Sepharose que se unió al conjugado de albúmina-Fab y la albúmina libre. La purificación se llevó a cabo de acuerdo con las instrucciones del fabricante, que se describen brevemente aquí:

la Blue Sepharose se reconstituyó en DPBS pH 7,4 y se lavó tres veces con PBS. Después del lavado, se añadió la mezcla de Fab y albúmina enlazada al enlazador y se incubó a temperatura ambiente durante 1 hora en un mezclador de rodillos. Después de la incubación, la matriz se lavó nuevamente con PBS para eliminar cualquier material no unido y luego se eluyó con PBS 7,4 que contenía KCl 2 M.

Purificación por exclusión de tamaño:

El material purificado por afinidad contenía albúmina conjugada con Fab junto con algo de HSA sin reaccionar. Esto requirió una limpieza adicional y esto se logró mediante cromatografía de exclusión por tamaño (S200 16X60 de GE Healthcare). Las fracciones combinadas finales se presentaron en DPBS pH 7,4. El conjugado final Fab-HSA de 1519.g57 se concentró hasta 20 mg/ml en DPBS pH 7,4 y se analizó en cromatografía de exclusión de tamaño analítico (Agilent Zorbax GF250 y GF450 en tándem) y se encontró que era un conjugado predominantemente monomérico. También se llevó a cabo el ensayo de endotoxinas y se encontró que la muestra estaba por debajo del límite inferior especificado de contenido de endotoxinas.

Ejemplo 2 Selección de moléculas candidatas a Fab' y Fab'PEG en el ensayo de reciclado de IgG

Para determinar la capacidad de las moléculas Fab'PEG candidatas para inhibir la actividad de FcRn en un ensayo de células funcionales, se seleccionaron moléculas en el ensayo de reciclado de IgG (descrito con más detalle en el Ejemplo 5). En resumen, las células del clon 34 de MDCK II se incubaron previamente con Fab' o Fab'PEG candidato antes de la adición de IgG humana biotinilada en un tampón ácido. Las células se lavaron para eliminar todo el exceso de IgG y luego se incubaron en un tampón de pH neutro para facilitar la liberación de IgG en el sobrenadante. La cantidad de IgG liberada en el sobrenadante se midió mediante el ensayo MSD y se calcularon los valores de CE₅₀. Los valores de CE₅₀ de las moléculas candidatas de Fab' y Fab'PEG humanizadas que inhiben el reciclado de IgG se muestran en la tabla a continuación. Tras la PEGilación, existe una pérdida de potencia para todos los anticuerpos candidatos, sin embargo, la extensión varía según el candidato.

Tabla 1

Anticuerpo	CE ₅₀ (nM) de Fab'	(n)	CE ₅₀ (nM) de Fab'PEG	(n)	Factor de cambio en CE ₅₀ después de la pegilación
CA170_0519.g63	1,91	3	5,25	3	2,7
CA170_0519.g57	2,06	7	6,64	6	3,2
CA170_0519.g2	4,22	2	11,01	4	2,6

Valores medios de CE₅₀ para las moléculas Fab' y Fab'PEG en el ensayo de reciclado de IgG.

Las células del clon 34 de MDCK II transfectadas de manera estable con FcRn humano y beta 2 microglobulina estaban a 25.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos y se incubaron durante la noche a 37 °C, CO₂ al 5 %. Las células se incubaron con Fab' o Fab'PEG candidato en HBSS+ (Ca/Mg) pH 5,9 + BSA al 1 % durante 1 hora a 37 °C, CO₂ al 5 % antes de la adición de 500 ng/ml de IgG humana biotinilada (Jackson) e incubación durante 1 hora más. Las células se lavaron con HBSS+ pH 5,9 y luego se incubaron a 37 °C, CO₂ al 5 % durante 2 horas en HBSS+ pH 7,2. El sobrenadante se eliminó de las células y se analizó para determinar la IgG total utilizando un ensayo MSD (usando un anticuerpo de captura anti-IgG humana (Jackson) y un anticuerpo revelador de marcador de estreptavidina-sulfo (MSD)). La curva de inhibición se analizó mediante regresión no lineal (Graphpad Prism®) para determinar la CE₅₀. La tabla 1 representa datos combinados de 2 a 7 experimentos.

Ejemplo 3 Afinidad para la unión de hFcRn

El análisis de interacción biomolecular utilizando tecnología de resonancia de plasmón superficial (SPR) se realizó en un sistema Biacore T200 (GE Healthcare) y se determinó la unión al dominio extracelular de FcRn humano. El dominio extracelular de FcRn humano se proporcionó como un complejo no covalente entre el dominio extracelular de la cadena alfa de FcRn humano (SEQ ID NO: 94) y la β 2 microglobulina (β 2M) (SEQ ID NO: 95). El fragmento F(ab')₂ Affinipure de cabra anti-IgG humana, el fragmento específico F(ab')₂ (para la captura de Fab'-PEG) o el fragmento específico Fc (para la captura de IgG1 o IgG4) (Jackson ImmunoResearch Lab, Inc.) en NaAc 10 mM, pH 5 se inmovilizó en un chip de sensor CM5 a través de la química de acoplamiento de amina a un nivel de captura entre 4000 - 5000 unidades de respuesta (UR) utilizando HBS-EP+ (GE Healthcare) como tampón de ejecución.

Fosfato 50 mM, pH 6 + NaCl 150 mM + P20 o HBS-P al 0,05 %, pH 7,4 (GE Healthcare) se usó como tampón de ejecución para el ensayo de afinidad. El anticuerpo en cuestión, ya sea anti-Fab'-PEG de hFcRn, IgG1 o IgG4P se diluyó a 5 μ g/ml (Fab'-PEG), 0,3 μ g/ml (IgG1) o 4 μ g/ml (IgG4) en un tampón de ejecución. Se utilizó una inyección de 60 s de Fab'-PEG o IgG1 o IgG4 a 10 μ l/min para la captura mediante la anti-IgG humana inmovilizada, F(ab')₂. El dominio extracelular de FcRn humano se valoró de 20 nM a 1,25 nM sobre el anticuerpo anti-FcRn capturado (Fab'-PEG, IgG1 o IgG4) durante 300 s a 30 μ l/min, seguido de una disociación de 1200 s. La superficie se regeneró con 2 x 60 s HCl 50 mM a 10 μ l/min.

Los datos se analizaron utilizando el software de evaluación T200 (versión 1.0).

Tabla 2 Datos de afinidad para anti-hFcRn de Fab'-PEG de 1519.g57 a pH 6

Fab'-PEG de 1519.g57	ka (M ⁻¹ s ⁻¹)	kd (s ⁻¹)	KD (M)
1	4.37E,+05	1.59E,-05	3.63E,-11
2	4.20E,+05	2.01E,-05	4.78E,-11
3	4.35E,+05	1.43E,-05	3.29E,-11
4	4.37E,+05	2.75E,-05	6.30E,-11
5	4.33E,+05	1.28E,-05	2.97E,-11
	4.32E,+05	1.81E,-05	4.19E,-11

Tabla 3 Datos de afinidad para anti-hFcRn de Fab'-PEG de 1519.g57 a pH 7,4

Fab'-PEG de 1519.g57	ka (M ⁻¹ s ⁻¹)	kd (s ⁻¹)	KD (M)
1	3.40E,+05	1.87E,-05	5.49E,-11
2	3.31E,+05	1.85E,-05	5.58E,-11
3	3.25E,+05	1.99E,-05	6.13E,-11
4	3.23E,+05	1.52E,-05	4.70E,-11
5	3.20E,+05	1.99E,-05	6.21E,-11
	3.28E,+05	1.84E,-05	5.62E,-11

- 5 En estos experimentos, el Fab'PEG tenía una afinidad promedio de alrededor de 42 pM a pH 6 y alrededor de 56 pM a pH 7,4.

Tabla 3A Datos de afinidad para anti-1519.g57 de hFcRn como IgG1 e IgG4P a pH 7,4 (promedio de tres experimentos)

pH7.4				
1519.g57	ka (M ⁻¹ s ⁻¹)	kd (s ⁻¹)	KD (M)	KD (pM)
IgG1	3.80E,+05	1.25E,-05	3.29E,-11	33
IgG4P	3.68E,+05	1.26E,-05	3.43E,-11	34

10

Tabla 3b Datos de afinidad para anti-1519.g57 de hFcRn como IgG1 e IgG4P a pH 6 (promedio de tres experimentos)

pH6				
1519.g57	ka (M ⁻¹ s ⁻¹)	kd (s ⁻¹)	KD (M)	KD (pM)
IgG1	4.56E,+05	1.01E,-05	2.21E,-11	22
IgG4P	4.43E,+05	1.00E,-05	2.26E,-11	23

- 15 Las tablas 3A y 3B muestran que la afinidad de los anticuerpos de longitud completa es consistente con la observada para el Fab'-PEG a pH 6 y pH 7,4.

Ejemplo 4 Potencia basada en células

- 20 Los ensayos basados en células se realizaron utilizando células de Riñón Canino Madin-Darby (MDCK) II que se habían transfectado de manera estable con un vector de doble gen FcRn humano y B2M humana con un marcador de selección de Geneticina. Se seleccionó un clon celular estable que era capaz de reciclar y transitosar IgG humana y se usó para todos los estudios posteriores. Será referido como clon 34 de MDCK II.

Afinidad basada en células de Fab'PEG de CA170_01519.g57 para FcRn humano

- 25 Se realizaron experimentos de citometría de flujo cuantitativo utilizando células del clon 34 de MDCK II y Fab' de CA170_01519.g57 o Fab'PEG de CA170_01519.g57 marcado con AlexaFluor 488. La unión específica del anticuerpo a FcRn en un intervalo de concentraciones de anticuerpos se usó para determinar la KD. Los análisis se realizaron en tampones neutros y ácidos para determinar si el pH ambiental comparable al encontrado en el plasma sanguíneo (pH 7,4) o en los endosomas (pH 6) tuvo algún efecto sobre la unión del anticuerpo.

- 30 La Figura 3 muestra curvas de unión representativas para Fab' (Figura 3A) y Fab'PEG (Figura 3B) de CA170_01519.g57. Los valores medios de KD (n = 2 o 3) fueron 1,66 nM y 6,5 nM en un tampón neutro, y 1,59 nM y 5,42 nM en un tampón ácido, respectivamente (véase la Tabla 4).

35

Tabla 4 - Valores medios de KD (nM) para Fab' y Fab'PEG de CA170_01519.g57 en células del clon 34 de MDCK II.

Formato de anticuerpos	FcRn humano pH 7,4	FcRn humano pH 6,0
Fab' de 1519.g57	1,66	1,59
Fab'PEG de 1519.g57	6,5	5,42

La **Figura 3** muestra Fab' de CA170_01519.g57 (A) y Fab'PEG de CA170_01519.g57 (B) que se unen a las células del clon 34 de MDCK II en pH ácido y neutro.

Las células del clon 34 de MDCK II se incubaron en tampón FACS (PBS con BSA al 0,2 % p/v, NaN₃ al 0,09 % p/v) durante 30 minutos antes de la adición de Fab' o Fab'PEG de CA170_01519.g57 marcado con Alexa-fluor 488 durante 1 hora en tampón FACS a pH 7,4 o pH 6. Las concentraciones finales de anticuerpos oscilaron entre 931 nM y 0,002 nM. Las células se lavaron en tampón FACS enfriado con hielo y luego se analizaron mediante citometría de flujo utilizando un citómetro de flujo de Guava (Millipore, Reino Unido). También se produjeron conjuntos de datos de valoración para los anticuerpos de control de isotipo para cada formato de anticuerpo para determinar la unión no específica. El número de moles de anticuerpo unido se calculó utilizando valores interpolados de una curva estándar generada a partir de perlas que comprenden cantidades diferentes de tinte fluorescente. Los valores medios geométricos de fluorescencia se determinaron en los análisis citométricos de flujo de células y perlas. La unión no específica se restó de los valores de anticuerpos anti-FcRn y la curva de unión específica generada se analizó mediante regresión no lineal utilizando una ecuación de unión de un sitio (Graphpad Prism®) para determinar la KD. Los datos son representativos de 2 o 3 experimentos.

Fab'PEG de CA170_01519.g57 puede unirse a FcRn humano expresado en células a pH tanto ácido como neutro y los valores de KD determinados son aproximadamente de 3,5 a 4 veces por debajo de la molécula de Fab' equivalente.

Ejemplo 5 Ensayos funcionales basados en células

Fab'PEG de CA170_01519.g57 inhibe el reciclado de IgG humana

La expresión de FcRn es principalmente intracelular (Borvak J et al. 1998, Int. Immunol., 10 (9) 1289-98 y Cauza K et al. 2005, J. Invest. Dermatol., 124 (1), 132-139), y está asociada a membranas endosomales y lisosomales. La porción Fc de IgG se une a FcRn a pH ácido (< 6,5), pero no a un pH fisiológico neutro (7,4) (Rhagavan M et al. 1995) y esta dependencia del pH facilita el reciclado de IgG.

Una vez que se toma mediante pinocitosis y entra en el endosoma ácido, la IgG unida a FcRn se reciclará junto con el FcRn a la superficie celular, mientras que al pH fisiológicamente neutro se liberará la IgG. (Ober RJ et al. 2004, The Journal of Immunology, 172, 2021-2029). Cualquier IgG no unida a FcRn entrará en la ruta de degradación lisosomal.

Se estableció un ensayo *in vitro* para examinar la capacidad de Fab'PEG o Fab' de CA170_01519.g57 para inhibir las capacidades de reciclado de IgG de FcRn. En resumen, las células del clon 34 de MDCK II se incubaron en presencia o ausencia de Fab' de CA170_01519.g57 o Fab'PEG de CA170_01519.g57 antes de la adición de IgG humana biotinilada en un tampón ácido (pH 5,9) para permitir la unión a FcRn. Se eliminó todo el exceso de anticuerpo y las células se incubaron en un tampón de pH neutro (pH 7,2) que permite la liberación de IgG unida, expuesta a la superficie, en el sobrenadante. La inhibición de FcRn se siguió utilizando en un ensayo MSD para detectar la cantidad de IgG reciclada y, por lo tanto, liberada en el sobrenadante.

La **Figura 4** muestra que CA170_01519.g57 inhibe el reciclado de IgG en las células del clon 34 de MDCK II. Las células del clon 34 de MDCK II se colocaron en placas a 25.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos y se incubaron durante la noche a 37 °C, CO₂ al 5 %. Las células se incubaron con Fab' o Fab'PEG de CA170_01519.g57 en HBSS+ (Ca/Mg) pH 5,9 + BSA al 1 % durante 1 hora a 37 °C, CO₂ al 5 % antes de la adición de 500 ng/ml de IgG humana biotinilada (Jackson) e incubación durante 1 hora más. Las células se lavaron con HBSS+ pH 5,9 y luego se incubaron a 37 °C, CO₂ al 5 % durante 2 horas en HBSS+ pH 7,2. El sobrenadante se eliminó de las células y se analizó para determinar la IgG total utilizando un ensayo MSD (usando un anticuerpo de captura anti-IgG humana (Jackson) y un anticuerpo revelador de marcador de estreptavidina-sulfo (MSD)). La curva de inhibición se analizó mediante regresión no lineal (Graphpad Prism®) para determinar la CE₅₀. El gráfico representa datos combinados de 6 o 7 experimentos.

Como se muestra en la **Figura 4**, Fab' de CA170_01519.g57 y Fab'PEG de CA170_01519.g57 inhiben el reciclado de IgG de una manera dependiente de la concentración con valores medios de CE₅₀ (n = 6 o 7) de 1,937 nM y 6,034 nM respectivamente. Por lo tanto, el Fab'PEG de CA170_01519.g57 es aproximadamente 3 veces menos potente que el Fab' de CA170_01519.g57 en la inhibición del reciclado de IgG.

Fab'PEG de CA170_01519.g57 inhibe la transcitosis de IgG humana

FcRn puede transitar la IgG a través de las capas de células epiteliales polarizadas en las direcciones apical a basolateral y basolateral a apical y, por lo tanto, desempeña un papel importante al permitir que la IgG se mueva entre la circulación y el lumen en las barreras mucosas (Claypool et al. 2004 Mol Biol Cell 15(4):1746-59).

Se estableció un ensayo *in vitro* para examinar la capacidad de Fab'PEG de CA170_01519.g57 para inhibir la transcitosis de IgG dependiente de FcRn. En resumen, las células del clon 34 de MDCK II se colocaron en una placa Transwell de 24 pocillos y se dejaron formar monocapas durante 3 días. Las células se incubaron previamente con Fab'PEG de CA170_01519.g57 en la superficie apical antes de la adición de IgG humana biotinilada en un tampón ácido que facilita la unión a FcRn. La IgG humana se transcitosa a través de las células del lado apical al basolateral y se libera en un tampón neutro en la cámara inferior. Los niveles de IgG en el lado basolateral se midieron luego utilizando un ensayo MSD.

La **Figura 5** muestra que Fab'PEG de CA170_01519.g57 inhibe la transcitosis de IgG desde la apical hasta la basolateral en las células del clon 34 de MDCK II.

Las células del clon 34 de MDCK II se colocaron en placas a 500.000 células por pocillo de una placa Transwell de 24 pocillos y se incubaron durante 3 días a 37 °C, CO₂ al 5 % hasta que se formaron las monocapas. El pH del compartimiento apical se ajustó a 5,9 y el lado basolateral a 7,2 en un tampón HBSS+ (Ca/Mg) + BSA al 1 %. Las células en el compartimiento apical se preincubaron con Fab'PEG de CA170_01519.g57 durante 1 hora antes de la adición de 2,5 µg/ml de IgG humana biotinilada (Jackson) en las concentraciones indicadas durante 4 horas a 37 °C, CO₂ al 5 %. Luego se recogió el medio basolateral y se midió la IgG total mediante el ensayo de MSD (utilizando un anticuerpo de captura anti-IgG humana (Jackson) y un anticuerpo revelador de marcador de estreptavidina-sulfo (MSD)). La curva de inhibición se analizó mediante regresión no lineal (Graphpad Prism®) para determinar la CE₅₀. El gráfico representa datos combinados de 3 experimentos.

En resumen, la Figura 5 muestra que Fab'PEG de CA170_01519.g57 puede inhibir la transcitosis apical a basolateral de la IgG humana de una manera dependiente de la concentración con un valor de CE₅₀ de 25,5 nM (n = 3).

Resumen de los efectos *in vitro* de Fab'PEG de CA170_01519.g57

El Fab'PEG de CA170_01519.g57 inhibe el reciclado de IgG y la transcitosis. La CE₅₀ de 6 nM obtenida en el ensayo de reciclado de IgG es comparable a los datos de afinidad de unión celular en los que se obtuvieron valores de KD de 6,5 nM en tampón neutro y 5,42 nM en tampón ácido. El Fab'PEG de CA170_01519.g57 muestra una ligera reducción en la potencia en comparación con el Fab' solo, pero en comparación con muchas de las otras moléculas candidatas evaluadas mostró la menor caída en la potencia entre los dos formatos (véase *supra*). En el ensayo de transcitosis de IgG se obtuvo una CE₅₀ de 25,5 nM.

Los datos en esta sección han demostrado claramente que el Fab'PEG de CA170_01519.g57 puede inhibir la función de FcRn humano.

Ejemplo 6 Reactividad cruzada de Fab'PEG de CA170_01519.g57 con FcRn de primate no humano.

Para validar el uso de Fab'PEG de CA170_01519.g57 en un estudio de PK/PD con primates no humanos y toxicología preclínica, se examinó su afinidad relativa y potencia funcional con FcRn de macaco. Se usaron células MDCK II transfectadas de manera estable con FcRn de macaco y B2M (MDCKII (cm)) para los siguientes estudios junto con las células MDCK II previamente descritas transfectadas de manera estable con FcRn humano y B2M (clon 34 de MDCK II).

Afinidad basada en células de Fab'PEG de CA170_01519.g57 para FcRn de macaco

Para determinar la afinidad de unión basada en células de Fab'PEG de CA170_01519.g57 para FcRn de macaco, se realizaron experimentos de citometría de flujo cuantitativo utilizando células MDCK II (cm) y Fab' o Fab'PEG de CA170_01519.g57 marcado con AlexaFluor 488. La unión específica del anticuerpo a FcRn de macaco en un intervalo de concentraciones de anticuerpos se usó para determinar la K_D. La unión del anticuerpo se realizó en pH tanto neutro como ácido para determinar el efecto de la unión de FcRn en plasma sanguíneo neutro o en endosomas ácidos y, por lo tanto, para determinar cualquier efecto que pueda tener el pH en la unión de CA170_01519.g57 a FcRn de macaco.

La **Figura 6** muestra Fab' de CA170_01519.g57 (A) y Fab'PEG de CA170_01519.g57 (B) que se unen a las células MDCK II (cm) en pH ácido y neutro.

Las células MDCK II (cm) se incubaron en tampón FACS (PBS con BSA al 0,2 % p/v, NaN₃ al 0,09 % p/v) durante 30 minutos antes de la adición de Fab' o Fab'PEG de CA170_01519.g57 marcado con Alexa-fluor 488 durante 1 hora en tampón FACS a pH 7,4 o pH 6. Las concentraciones finales de anticuerpos oscilaron entre 931 nM y 0,002 nM.

Las células se lavaron en tampón FACS enfriado con hielo y luego se analizaron mediante citometría de flujo utilizando un citómetro de flujo de Guava (Millipore, Reino Unido). También se produjeron conjuntos de datos de valoración para los anticuerpos de control de isotipo para cada formato de anticuerpo para determinar la unión no específica. El número de moles de anticuerpo unido se calculó mediante la utilización de valores interpolados de una curva estándar generada a partir de perlas que llevan varias cantidades de tinte fluorescente. Los valores medios geométricos de fluorescencia se determinaron en los análisis citométricos de flujo de células y perlas. La unión no específica se restó de los valores de anticuerpos anti-FcRn y la curva de unión específica generada se analizó mediante regresión no lineal utilizando una ecuación de unión de un sitio (Graphpad Prism®) para determinar la K_D . Los datos son representativos de entre 2 y 3 experimentos.

Tabla 5 Valores medios de K_D (nM) para Fab' y Fab'PEG de CA170_01519.g57 en células MDCK II (cm).

Formato de anticuerpos	Cyno FcRn pH 7,4	Cyno FcRn pH 6,0
Fab' de 1519.g57	1,16	1,09
Fab'PEG de 1519.g57	8,15	5,01

La Figura 6 muestra curvas de unión representativas para la unión de Fab' (Figura 6A) y Fab'PEG (Figura 6B) de CA17001519.g57 a FcRn de macaco. Los valores medios de K_D obtenidos para Fab' y Fab'PEG de CA17001519.g57 se muestran en la Tabla 5. Estos valores son comparables a los valores de K_D obtenidos para la unión de Fab' y Fab'PEG de CA170_01519.g57 a FcRn humano (véase la tabla 4)

Fab'PEG de CA170_01519.g57 inhibe el reciclado de IgG de macaco

Para determinar si Fab'PEG de CA170_01519.g57 es funcionalmente activo en la inhibición de FcRn de macaco, se usaron células MDCK II (cm) para examinar la capacidad de Fab'PEG de CA170_01519.g57 para inhibir el reciclado de la IgG de macaco como se describe previamente para el ensayo de FcRn humano. El ensayo se realizó junto con ensayos humanos representativos para permitir una comparación entre los dos.

En resumen, las células MDCK II (clon 34 o cm) se incubaron previamente con Fab'PEG de CA170_01519.g57 antes de la adición de IgG humana biotinilada (h) o de macaco (c) en un tampón ácido para permitir la unión a FcRn. Se eliminó todo el exceso de Fab'PEG de CA170_01519.g57 e IgG biotinilada y las células se incubaron en un tampón de pH neutro para permitir la liberación de IgG en el sobrenadante. La inhibición de FcRn se evaluó mediante la detección de la cantidad de IgG presente en el sobrenadante mediante el ensayo de MSD y se calculó el porcentaje de inhibición.

Como se muestra en la **Figura 7**, Fab'PEG de CA170_01519.g57 puede inhibir el reciclado de IgG humana y de macaco de una manera dependiente de la concentración, con valores de CE_{50} de 8,448 nM y 5,988 nM respectivamente. La inhibición de FcRn mediante Fab'PEG de CA170_01519.g57 en los ensayos humano y de macaco son comparables, aunque parece ser un poco más potente contra el FcRn de macaco.

Tabla 6

	hFcRn:hIgG de Fab'PEG de 1519.g57	cFcRn:clgG de Fab'PEG de 1519.g57
CE_{50} (nM)	8,448	5,988
CI al 95 % (nM)	6,560 a 10,88	5,383 a 6,661

La **Figura 7** muestra que CA170_01519.g57 inhibe el reciclado de IgG en las células del clon 34 de MDCK II y células MDCK II (cm).

Las células del clon 34 de MDCK II y MDCK II (cm) se colocaron en placas a 25.000 células por pocillo en una placa de 96 pocillos y se incubaron durante la noche a 37 °C, CO_2 al 5 %. Las células se incubaron previamente con Fab' o Fab'PEG de CA170_01519.g57 en HBSS+ (Ca/Mg) pH 5,9 + BSA al 1 % durante 1 hora a 37 °C, CO_2 al 5 % antes de la adición de 500 ng/ml de IgG de macaco o humana biotinilada y se incubación durante 1 hora más. Las células se lavaron luego con HBSS+ pH 5,9 y se incubaron a 37 °C, CO_2 al 5 % durante 2 horas en HBSS+ pH 7,2. El sobrenadante se eliminó de las células y se analizó para determinar la IgG total utilizando un ensayo MSD (usando un anticuerpo de captura anti-IgG humana (Jackson) y un anticuerpo revelador de marcador de estreptavidina-sulfo (MSD)). La curva de inhibición se analizó mediante regresión no lineal (Graphpad Prism®) para determinar la CE_{50} . El gráfico representa datos combinados de 2 experimentos.

Ejemplo 7 Efecto de Fab PEG de 01519g en macaco

Este fue un estudio del efecto de la administración de Fab PEG de 01519g en macacos, en regímenes de dosis únicas, intermitentes o repetidas. Se administró Fab PEG de 01519g mediante infusión intravenosa, como una dosis única o en dosis repetidas a grupos de cuatro macacos como se indica en la Tabla 7. La IgG en plasma y la farmacocinética de Fab PEG de 01519g se controlaron mediante inmunoensayo (véase la Tabla 7A para los métodos de inmunoensayo) y LC-MS/MS. El ensayo de albúmina en plasma se realizó en Covance.

Tabla 7 Grupos de dosis en estudio NCD2241. La dosificación se realizó mediante infusión intravenosa. La dosis repetida fue la misma que la primera dosis en cada caso. Las dosis repetidas (de 4) fueron semanales.

Fase	Grupo	Anticuerpo	Dosis (mg/kg)	Régimen de dosificación	Comentarios
I	1	Control	0	Dosis única	Dosis repetida a los 67 días
	2	Fab PEG	20	Dosis única	Dosis repetida a los 67 días
	3	Fab PEG	100	Dosis única	Dosis repetida a los 67 días
II	4	Control	0	Dosis repetida	
	5	Fab PEG	20	Dosis repetida	
	6	Fab PEG	100	Dosis repetida	

Tabla 7A Métodos de inmunoensayo de IgG en plasma, PK y ADA

Tipo de ensayo	Inmunoensayo	Método
PD	IgG en plasma total	1) Cubrir la placa de inmunoensayo con F(ab') ₂ de cabra anti-Fcγ humano 2) Incubar con la muestra. 3) Revelar con F(ab') ₂ conjugada con peroxidasa de rábano picante, F(ab') ₂ de cabra anti-IgG humana y la adición de sustrato TMB.
PK	PK de Fab PEG	1) Cubrir la placa de inmunoensayo con FcRn. 2) Incubar con la muestra. 3) Revelar con anti-IgG1 PEG murina conjugada de biotina /conjugado de estreptavidina-proxidasa de rábano picante y la adición de sustrato TMB. Revelar alternativamente con MSD de cabra anti-kappa humana marcada con sulfo y la adición de tampón de lectura MSD

5

Efecto sobre la concentración de IgG en plasma

Los datos de inmunoensayo y LC-MS/MS de IgG en plasma estuvieron de acuerdo. La IgG en plasma se redujo mediante la administración de Fab PEG (véase la Figura 12 y Figura 14). Para ambos grupos de dosis de Fase I, una dosis única de Fab PEG redujo la IgG en plasma en aproximadamente un 70-80 %, alcanzando un nadir en aproximadamente 7 días y volviendo a los niveles previos a la dosis en el día 63. La dosis repetida en el día 67 logró resultados similares.

10

Para ambos grupos de dosis de Fase II, 4 dosis semanales de Fab PEG redujeron la IgG en plasma en aproximadamente un 70-80 %, alcanzando nuevamente un nadir aproximadamente 7 días después de la primera dosis. Los resultados se muestran en la Figura 13.

15

Ejemplo 8 Efecto de Fab'PEG de CA170_01519.g57 e IgG4P de CA170_01519.g57 en macaco

Los efectos de Fab'PEG de CA170_01519 g.57 e IgG4P de CA170_01519 g.57 en IgG en plasma endógeno se determinaron en macacos. Se dosificaron los animales como se indica en la Tabla 8, con 4 animales por grupo de tratamiento. La IgG en plasma y la farmacocinética de las entidades anti-FcRn se controlaron mediante inmunoensayo (véase la Tabla 8A para los métodos de inmunoensayo) y LC-MS/MS.

20

25

Tabla 8 Regímenes de tratamiento en macacos.

Anti-FcRn	Dosis (mg/kg)	Régimen de dosificación	Vía	Figura
Fab'PEG	20	Día 0 & 65	i.v.	15
Fab'PEG	20	Cada 3 días, día 0-27	i.v.	16
IgG4P	30	Día 0 & 63	i.v.	17
IgG4P	30 & 5	30 mg/kg en el día 0, 5 mg/kg diariamente los días 1-41	i.v.	18
Control	0	Diariamente los días 0-41	i.v.	19

Tabla 8A Métodos de inmunoensayo de IgG en plasma y PK

Tipo de ensayo	Inmunoensayo	Método
PD	IgG en plasma total	1) Cubrir la placa de inmunoensayo con F(ab') ₂ de cabra anti-Fcγ humano. 2) Incubar con la muestra. 3) Revelar con F(ab') ₂ conjugada con peroxidasa de rábano picante, F(ab') ₂ de cabra anti-IgG humana y la adición de sustrato TMB.
PK	PK de Fab'PEG	1) Cubrir la placa de estreptavidina MSD con FcRn biotinilado. 2) Incubar con la muestra. 3) Revelar con MSD de cabra anti-kappa humana marcada con azufre y la adición de tampón de lectura MSD.

Efecto sobre la concentración de IgG en plasma.

- 5 Los datos de inmunoensayo y LC-MS/MS de IgG en plasma estuvieron de acuerdo. La IgG en plasma se redujo mediante la administración de Fab'PEG anti-FcRn o IgG4P anti-FcRn (véase las Figuras 15 y 16 y las Figuras 17 y 18, respectivamente; véase la Figura 19 para el control). Para ambas entidades anti-FcRn, una dosis única redujo la IgG en plasma en aproximadamente un 70-80 %, alcanzando un nadir en aproximadamente 7 días y volviendo a los niveles previos a la dosis en el día 62. La dosis repetida en el día 63 o el día 65, según lo descrito, logró resultados similares.

La dosificación repetida de Fab'PEG o IgG4P anti-FcRn redujo la IgG en plasma en aproximadamente un 60-80 % y mantuvo el nivel de IgG durante la duración del período de dosis. De nuevo, el nadir se alcanzó aproximadamente 7 días después de la primera dosis. Los resultados se muestran en las Figuras 16 y 18.

Ejemplo 9 Efecto de Fab'PEG de CA170_01519.g57, IgG1 de CA170_01519.g57, IgG4P de CA170_01519.g57, Fab'PEG de CA170_01519.g57, FabFv de CA170_01519.g57 y Fab de CA170_01519.g57 en ratones transgénicos con hFcRn

- 20 El efecto de varios formatos diferentes del anticuerpo CA170_01519.g57 sobre el aclaramiento de la IVIG humana se determinó en ratones transgénicos con FcRn humano. Los formatos probados fueron Fab'PEG de CA170_01519.g57, IgG1 de CA170_01519.g57, IgG4P de CA170_01519.g57, Fab'PEG de CA170_01519.g57, FabFv de CA170_01519.g57 y Fab de CA170_01519.g57 y los resultados se muestran en las Figuras 20, 21, 22, 23 y 24 respectivamente. Las dosis únicas de compuesto activo fueron las que se muestran en las Figuras. Con el fin de detectar sus efectos sobre el aclaramiento de la IgG humana (IVIG), a los ratones se les inyectaron 500 mg/kg de IVIG humana que se cuantificó mediante LCMSMS en muestras seriadas de plasma extraídas de las colas de los ratones a intervalos. La inhibición de hFcRn por cada uno de los diferentes formatos de anticuerpos probados dio como resultado un aclaramiento acelerado de hIVIG y se observaron concentraciones más bajas de IgG total en comparación con los ratones de control.

El tratamiento anti-FcRn mejora el aclaramiento de hIgG en ratones transgénicos con hFcRn

Ratones transgénicos humanizados con FcRn (*B6.Cg-Fcgr^{tm1Dcr}* Tg(FcGRT)32Dcr/DcrJ, ratones JAX) se infundieron por vía intravenosa con 500 mg/kg de IgG humana (IgI humana Gamunex-c al 10 %, Talecris Biotherapeutics). 24 horas después, a los animales se les administró un control de vehículo (PBS) o anti-FcRn por vía intravenosa como una dosis única. Se tomaron muestras de sangre de la punta de la cola a las -24, 8, 24, 48, 72, 144 y 192 horas en relación con el tratamiento anti-FcRn. Los niveles séricos de IgG humana en el ratón hFcRn y la farmacocinética de los inhibidores de FcRn se determinaron mediante LC-MS/MS. Los datos presentados en las figuras 20 a 24 son la media ± EEM con 3-6 ratones por grupo de tratamiento.

Cuantificación de IgG humana, inhibidores de FcRn e IgG de macaco endógena mediante LC-MS/MS

IgG humana, IgG de macaco e inhibidores de FcRn (Fab'PEG de 1519.g57, IgG4P de 1519.g57, IgG1 de 1519.g57, FabFv de 1519.g57, Fab de 1519.g57 y Fab'HAS de 1519.g57) se cuantificaron utilizando análisis de cromatografía líquida en tándem con espectrometría de masas (LC-MS/MS) después de digestión triptica.

La cuantificación se logró mediante la comparación con el material estándar auténtico enriquecido en concentraciones conocidas en la matriz en blanco, con la mioglobina de caballo enriquecida utilizada como estándar interno.

Se seleccionaron péptidos únicos ("proteotípicos") para todos los analitos de interés investigados y tanto las muestras como las muestras de calibración se digirieron de forma triptica como se describe a continuación.

En resumen, se realizó una digestión triptica de 5 µl de muestras de suero durante la noche usando tripsina modificada con grado de secuenciación (Promega, Southampton, Reino Unido) después de la desnaturalización con

acetonitrilo / tris (2-carboxietil) fosfina y carbamido-metilación con yodoacetamida (todas de Sigma-Aldrich, Poole, Reino Unido).

- 5 Los analitos se separaron utilizando una columna Onyx Monolithic C18 (100x4,6 mm, Phenomenex, Macclesfield, Reino Unido) con un gradiente del 2 al 95 % (v/v) de agua/acetonitrilo (ácido fórmico al 0,1 %) administrado a 1,5 ml/min durante 6 minutos.

El volumen de inyección fue de 10 µl; todo el eluyente se introdujo en la fuente del espectrómetro de masas.

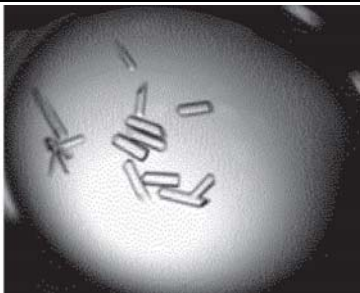
- 10 La temperatura de la fuente del espectrómetro de masas se mantuvo a 600 °C y otros parámetros de la fuente (por ejemplo, energía de colisión, potencial de desintegración, presión del gas de cortina, etc.) se optimizaron para lograr la máxima sensibilidad para cada péptido de interés. Se monitorizaron las transiciones selectivas para cada péptido proteotípico de interés.

15 **Ejemplo 10: Cristalografía y epítipo de unión.**

- Se determinó la estructura cristalina de Fab' de 1519 g57 y el dominio extracelular de FcRn humano desglucosilado (dominio extracelular de la cadena alfa (SEQ ID NO: 94) en asociación con la beta2 microglobulina (SEQ ID NO: 95), con la exclusión del oligosacárido de FcRn para facilitar la cristalización. Fab' de 1519.g57 se hizo reaccionar con un exceso molar de 10 veces de N-etil maleimida para evitar la formación de diFab' y cualquier diFab' existente eliminado por SEQ (S200 en Akta FPLC). El dominio extracelular de FcRn humano se trató con PNGaseF para eliminar los azúcares unidos a N. Para ello, la concentración de la muestra de FcRn se ajustó utilizando PBS (pH 7,4) a 5 mg/ml y un volumen total de 1 ml. Se añadieron 200 unidades de PNGaseF (Roche) a esta solución de FcRn humano. Esto se incubó a 37 °C durante ~ 18 horas, después de lo cual se verificó el grado de desglucosilación usando SDS PAGE. Una vez completada la reacción, el FcRn desglucosilado se intercambió con tampón en acetato de sodio 50 mM, NaCl 125 mM, pH 6,0.

- 30 El complejo se formó mediante la incubación de una mezcla de reactivos (Fab':FcRn::1,2:1, p/p) a temperatura ambiente durante 60 minutos, y luego se purificó utilizando SEQ (S200 usando Akta FPLC). La selección se realizó utilizando las diversas condiciones que estaban disponibles en Qiagen (aproximadamente 2000 condiciones). La incubación y las imágenes se realizaron con Formulatrix Rock Imager 1000 (para un período de incubación total de 21 días). El resultado de la selección se muestra en las Tablas 9, 10 y 11.

Tabla 9 El resultado del análisis de cristalización, que muestra el cristal utilizado para el análisis de rayos X.

Tipo de experimento de cristalización		Gota en sedestación, difusión de vapor	
Condición de cristalización	Citrato de sodio 0,1 mM, pH 5,5, PEG6000 al 11 %		
Concentración de proteína	10 mg/ml	Volumen/relación de gotas	0,4 µl de proteínas + 0.4 µl de reservorio
Tiempo de crecimiento de cristal	8-21 días		
Crioprotección	Los cristales se recogieron de la gota, se transfirieron a un tampón de crioprotección (reservorio al 70 % + etilenglicol al 30 %) y se congelaron rápidamente en nitrógeno líquido (-180 °C) en 10 segundos.		
Comentarios			
			
	Imagen de cristal en gota		Fotos de cristal congelado en el bucle (el cuadrado rojo es haz de rayos X)

35

Tabla 10. Condiciones para la recolección y procesamiento de datos de análisis de rayos X.

Tabla 16: Condiciones para la recolección y procesamiento de datos de difracción de rayos X.						
Fuente de rayos x	Fuente de luz de diamante, Línea de luz I04					
Tipo de experimento	Longitud de onda única		Longitud de onda		0,9795 Å	
Software de procesamiento	Mosflm/Scala					
Límites de resolución	35,00- 2,90		Grupo espacial		P3 ₂ 2 1	
Parámetros de celda unitaria	a =	150,10 Å	b =	150,10 Å	c =	89,15 Å
	α =	90,00 °	β =	90,00 °	γ =	120,00 °
Completo	99,9 % (100,0 %)		Multiplicidad		6,7 (6,8)	
I/σ(I)	13,4 (4,8)		R _{fusión}		9,2 % (36,3 %)	
Número de reflexiones	172724 (25602)		Número de reflexiones únicas		25967 (3760)	
Comentarios						

Nota: Los números entre paréntesis se refieren a la capa exterior de resolución

Tabla 11 Determinación y refinamiento de la estructura

Método de determinación de estructura	Reemplazo Molecular	Programa(s) utilizado(s)	Phaser
Plantilla de estructura	Estructura del receptor FcRn de PDB 3M17 y Fab-3DVN previamente resuelto		
Programa de refinamiento	Refmac5	Límites de resolución	30,00- 2,9
Factor R	23,2 %	Factor R libre	28,4 %
Número de átomos no de hidrógeno	- 6125 átomos de proteína - 2 iones acetato (4 átomos cada uno) - 27 aguas en UA - 2 iones Cl ⁻ - 2 iones Na ⁺		
Longitud de enlace RMSD	0,009 Å	ángulo de enlace RMSD	1,338 °
Ramachandran permitido	98,6 %	Ramachandran atípicos	1,4 %
Comentarios	Reconstruido utilizando CCP4/Coot.		

- 5 No hubo ningún cambio evidente en la estructura de FcRn tras la unión de Fab' de 1519 g57 (comparando este complejo con las estructuras publicadas de FcRn). A partir de la estructura cristalina, se calculó que el contenido de la estructura secundaria era: 9,4 % de α -hélice; 45,2 % de hoja β ; 2,5 % de giro 3-10.

- 10 Los restos que interactúan con Fab' de 1519 g57 estaban todos en la cadena α de FcRn (no β 2M) y se indican a continuación en **negrita**. Los restos en cuestión abarcan todos menos 1 de los restos críticos para la unión de Fc. 1519 g57 se une a una región que se superpone a la región de unión a Fc, lo que sugiere que la inhibición de FcRn mediante Fab' de 1519 g57 se realiza por simple competencia, siendo el anti-FcRn eficaz en virtud de su afinidad superior.

AESHLSLLYH LTAVSSPAPG TPAFWVSGWL GPQQYLSYNS
 LRGEAEP CGA VVWENQVSWY WEKETDRLI KEKLFLEAFK ALGGKG PYTL
 QGLLGCELGP DNTSVPTAKF ALNG**EEFMNF DLKQGTWGGD WPEAL** AISQR
 WQQQDKAANK ELTFLFSCP HRLREHLERG RGNLEWKEPP SMRLKARPSS

 PGFSVLTC SA FSFYPP ELQL RFLRNGLAAG TGQGDFGPNS DGSFHASSSL
 TVKSGDEHHY CCIVQHAGLA QPLRVELESPAKSS

- 20 La secuencia de la cadena α de FcRn, que muestra los restos implicados en la interacción con Fab' de 1519 g57 (**negrita**) y los restos críticos para la interacción con Fc de IgG (subrayado). Todos menos 1 de estos últimos están incluidos en los primeros.

LISTADO DE SECUENCIAS

- 25 <110> UCB Pharma S.A.
- <120> Anticuerpos anti-FcRn

<130> G0165
 <150> GB1208370.5
 5 <151> 14/05/2012
 <160> 94
 <170> PatentIn versión 3.5
 10 <210> 1
 <211> 10
 <212> PRT
 <213> Artificial
 15 <220>
 <223> CDRH1 de CA170_1519
 <400> 1
 20 Gly Phe Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Val
 1 5 10
 <210> 2
 <211> 17
 25 <212> PRT
 <213> Artificial
 <220>
 <223> CDRH2 de CA170_1519
 30 <400> 2
 Tyr Ile Asp Ser Asp Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val Lys
 1 5 10 15
 Gly
 35 <210> 3
 <211> 8
 <212> PRT
 <213> Artificial
 40 <220>
 <223> CDRH3 de CA170_1519
 <400> 3
 Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr
 1 5
 45 <210> 4
 <211> 16
 <212> PRT
 50 <213> Artificial
 <220>
 <223> CDRL1 de CA170_1519
 55 <400> 4

ES 2 732 081 T3

Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val Gly Ala Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr
 1 5 10 15

5 <210> 5
 <211> 7
 <212> PRT
 <213> Artificial
 10 <220>
 <223> CDRL2 de CA170_1519
 <400> 5

Leu Val Ser Thr Leu Asp Ser
 1 5

15 <210> 6
 <211> 9
 <212> PRT
 <213> Artificial
 20 <220>
 <223> CDRL3 de CA170_1519
 <400> 6

Leu Gln Gly Thr His Phe Pro His Thr
 1 5

25 <210> 7
 <211> 112
 <212> PRT
 30 <213> Artificial
 <220>
 <223> Región VL del Ac 1519 de rata
 35 <400> 7

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val Gly Ala
20 25 30

Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Arg Ser Gly Gln Ser
35 40 45

Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Thr Leu Asp Ser Gly Ile Pro

50

55

60

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

Arg Arg Val Glu Ala Asp Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
100 105 110

<210> 8

<211> 336

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Región VL del Ac 1519 de rata

<400> 8

gatgttgtga tgacccagac tccactgtct ttgtcggttg cccttggaca accagcctcc 60

atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg gaaagacata ttgtattgg 120

ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag cgactaatct atctggtgtc cacactggac 180

tctggaattc ctgatagggt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc 240

cgcagagtgg aagccgatga ttggggagtt tattactgct tgcaagggtac acattttcct 300

cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ttgaaa 336

<210> 9

<211> 132

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Región VL del Ac 1519 de rata con secuencia señal

<400> 9

Met Met Ser Pro Ala Gln Phe Leu Phe Leu Leu Met Leu Trp Ile Gln
1 5 10 15

Gly Thr Ser Gly Asp Val Val Met Thr Gln Thr Pro Leu Ser Leu Ser
20 25 30

Val Ala Leu Gly Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser
35 40 45

Leu Val Gly Ala Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Arg
50 55 60

Ser Gly Gln Ser Pro Lys Arg Leu Ile Tyr Leu Val Ser Thr Leu Asp
65 70 75 80

Ser Gly Ile Pro Asp Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ala Glu Thr Asp Phe
85 90 95

Thr Leu Lys Ile Arg Arg Val Glu Ala Asp Asp Leu Gly Val Tyr Tyr
100 105 110

Cys Leu Gln Gly Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys
115 120 125

Leu Glu Leu Lys
130

5 <210> 10
<211> 396
<212> ADN
<213> Artificial

10 <220>
<223> Región VL del Ac 1519 de rata con secuencia señal

<400> 10

atgatgagtc ctgccagtt cctgtttctg ctgatgtctt ggattcaggg aaccagtgg 60

gatgttgtga tgaccagac tccactgtct ttgtcggttg cccttgaca accagcctcc 120

atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg gaaagacata tttgtattgg 180

ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag cgactaatct atctggtgtc cacactggac 240

tctggaattc ctgataggtt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc 300

cgcagagtgg aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct 360

cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ttgaaa 396

15 <210> 11
<211> 116

<212> PRT
<213> Artificial

<220>

5 <223> Región VH del Ac 1519 de rata

<400> 11

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

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

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

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

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

Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr Tyr Tyr Cys
85 90 95

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

Val Thr Val Ser
115

10

<210> 12
<211> 348
<212> ADN
<213> Artificial

15

<220>
<223> Región VH del Ac 1519 de rata

<400> 12

20

gaggtgccgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc catgaaactc 60
 tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca tggctctgggt ccgccaggct 120
 ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat attgattctg atggtgataa tacttactac 180
 cgagattccg tgaagggccg attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat 240
 ttgcaaatgg acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt 300
 gtccggccct ttctctattg gggccaagga accacggtca ccgtctcg 348

<210> 13
 <211> 135
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Región VH del Ac 1519 de rata con secuencia señal

<400> 13

Met Asp Ile Ser Leu Ser Leu Ala Phe Leu Val Leu Phe Ile Lys Gly
 1 5 10 15
 Val Arg Cys Glu Val Pro Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Ser Val Gln
 20 25 30
 Pro Gly Arg Ser Met Lys Leu Ser Cys Val Val Ser Gly Phe Thr Phe
 35 40 45
 Ser Asn Tyr Gly Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Lys Lys Gly Leu
 50 55 60
 Glu Trp Val Ala Tyr Ile Asp Ser Asp Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Arg
 65 70 75 80
 Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asn Asn Ala Lys Ser
 85 90 95
 Thr Leu Tyr Leu Gln Met Asp Ser Leu Arg Ser Glu Asp Thr Ala Thr
 100 105 110
 Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln
 115 120 125
 Gly Thr Thr Val Thr Val Ser
 130 135

<210> 14
 <211> 405
 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Región VH del Ac 1519 de rata con secuencia señal

5

<400> 14

```

atggacatca gtctcagctt ggctttcctt gtccttttca taaaagggtgt ccggtgtgag      60
gtgccgctgg tggagtctgg gggcggctca gtgcagcctg ggaggtccat gaaactctcc      120
tgtgtagtct caggattcac tttcagtaat tatggcatgg tctgggtccg ccaggctcca      180
aagaagggtc tggagtgggt cgcataatatt gattctgatg gtgataatac ttactacoga      240
gattccgtga agggccgatt cactatctcc agaaataatg caaaaagcac cctatatttg      300
caaatggaca gtctgaggtc tgaggacacg gccacttatt actgtacaac agggattgtc      360
cggccctttc tctattgggg ccaaggaacc acggtcacccg tctcg                        405

```

10

<210> 15

<211> 112

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Región V de 1519gL20

<400> 15

Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser Ala Ser Val Gly

1 5 10 15

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

Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35 40 45

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

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
65 70 75 80

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly
85 90 95

Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105 110

20

<210> 16

<211> 336
<212> ADN
<213> Artificial

5 <220>
<223> Región V de 1519gL20 (expresión en E. coli)

<400> 16

```

gatatccaga tgacccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga tctgtgtgact      60
attacctgta aaagctccca gtccctggtg ggtgcaagcg gcaaaaccta cctgtactgg      120
ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa cgcctgatct atctggtgtc taccctggat      180
agcgggtattc cgtctcggtt ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt      240
agctccctcc agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg      300
cacactttcg gccaggggtac caaactggaa atcaaa      336

```

10

<210> 17
<211> 336
<212> ADN
<213> Artificial

15

<220>
<223> Región V de 1519gL20 (expresión en mamíferos)

20 <400> 17

```

gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga tcgcgtgaca      60
attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg      120
ctctttcaga agcctggcaa ggcacccaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac      180
tctgggatac cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt      240
tcatcgctgc aaccggagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt      300
cacactttcg gccagggggac aaaactcgaa atcaaa      336

```

25 <210> 18
<211> 133
<212> PRT
<213> Artificial

30 <220>
<223> Región V de 1519gL20 con secuencia señal (expresión en E. coli)

<400> 18

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

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

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

Ser Leu Val Gly Ala Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln
50 55 60

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

Asp Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu
85 90 95

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
100 105 110

Tyr Cys Leu Gln Gly Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr
115 120 125

Lys Leu Glu Ile Lys
130

<210> 19
<211> 399
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Región V de 1519gL20 con secuencia señal (expresión en E. coli)

<400> 19

atgaaaaaga cagctatcgc aattgcagtg gccttggtcg gtttcgctac cgtagcgcaa 60

gctgatatcc agatgaccca gagtccaagc agtctctccg ccagcgtagg cgatcgtgtg 120

actattacct gtaaaagctc ccagtcctcg gtgggtgcaa ggggcaaaac ctacctgtac 180

tggtctcttc agaaaccggg caaagctccg aaacgcctga tctatctggt gtctaccctg 240

gatagcggta ttccgtctcg tttctccggt agcggtagcg gtaccgaatt cacgctgacc 300

attagctccc tccagccgga ggactttgct acctattact gcctccaggg cactcatttt 360

ccgcacactt tcggccaggg taccaaactg gaaatcaaa 399

<210> 20

<211> 132
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Región V de 1519gL20 con secuencia señal (expresión en mamíferos)

<400> 20

```

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
1          5          10          15

Asp Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
          20          25          30

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

Leu Val Gly Ala Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Lys
50          55          60

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

Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe
          85          90          95

Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr
          100          105          110

Cys Leu Gln Gly Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys
          115          120          125

Leu Glu Ile Lys
          130

```

<210> 21
<211> 396
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Región V de 1519gL20 con secuencia señal (expresión en mamíferos)

<400> 21

```

atgtctgtcc ccaccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga tgccagatgc      60
gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga tcgcgtgaca      120
attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg      180
ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac      240
tctgggatac cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt      300
tcacgcgtgc aacccgagga ctttgcctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt      360
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaa                                396

```

<210> 22
 <211> 219
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena ligera de 1519gL20 (V + constante)

<400> 22

```

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

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

Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Lys Pro Gly Lys Ala
          35           40           45

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

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
65           70           75           80

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly
          85           90           95

Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
          100          105          110

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
          115          120          125

```

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
210 215

<210> 23

<211> 657

<212> ADN

<213> Artificial

<220>

<223> Cadena ligera de 1519gL20 (V + constante, expresión en E. coli)

<400> 23

gatatccaga tgacccagag tccaagcagt ctctccgccg gcgtaggcga tcgtgtgact 60
attacctgta aaagctccca gtccctggtg ggtgcaagcg gcaaaccta cctgtactgg 120
ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa cgcctgatct atctggtgtc taccctggat 180
agcgggtattc cgtctcgttt ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt 240
agctccctcc agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg 300
cacactttcg gccagggtag caaactggaa atcaaactga cggtagcggc cccatctgtc 360
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg 420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa 480
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540
agcagcaccg tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 600
gtcaccatc agggcctgag ctaccagta acaaaaagtt ttaatagagg ggagtgt 657

<210> 24

<211> 657

<212> ADN

<213> Artificial

<220>
 <223> Cadena ligera de 1519gL20 (V + constante, expresión en mamíferos)

5 <400> 24

gatatccaga tgacccagag tccaagcagt ctctccgccg gcgtaggcga tcgtgtgact	60
attacctgta aaagctccca gtccctggtg ggtgcaagcg gcaaaaccta cctgtactgg	120
ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa cgcctgatct atctggtgtc taccctggat	180
agcggtatct cgtctcgttt ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt	240
agctccctcc agccggagga ctttgctacc tattactgcc tocagggcac tcattttccg	300
cacactttcg gccagggtac caaactggaa atcaaacgta cggtagcggc cccatctgtc	360
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcttg	420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa	480
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	540
agcagcaccg tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa	600
gtcaccatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt	657

10 <210> 25
 <211> 240
 <212> PRT
 <213> Artificial

15 <220>
 <223> Cadena ligera de 1519gL20 con secuencia señal (expresión en E. coli)
 <400> 25

```

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

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

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

Ser Leu Val Gly Ala Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln
      50      55      60

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

Asp Ser Gly Ile Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu
      85      90      95

Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr
      100      105      110

Tyr Cys Leu Gln Gly Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr
      115      120      125

Lys Leu Glu Ile Lys Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe
      130      135      140

Pro Pro Ser Asp Glu Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys
145      150      155      160

Leu Leu Asn Asn Phe Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val
      165      170      175

Asp Asn Ala Leu Gln Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln
      180      185      190

Asp Ser Lys Asp Ser Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser
      195      200      205

Lys Ala Asp Tyr Glu Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His
      210      215      220

Gln Gly Leu Ser Ser Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys
225      230      235      240

```

<210> 26

<211> 720

ES 2 732 081 T3

<212> ADN
<213> Artificial

<220>

5 <223> Cadena ligera de 1519gL20 con secuencia señal (expresión en E. coli)

<400> 26

atgaaaaaga cagctatcgc aattgcagtg gccttggctg gtttcgctac cgtagcgcaa	60
gctgatatcc agatgaccca gagtccaagc agtctctccg ccagcgtagg cgatcgtgtg	120
actattacct gtaaaagctc ccagtccttg gtgggtgcaa gcggcaaac ctacctgtac	180
tggctcttcc agaaaccggg caaagctccg aaacgcctga tctatctggt gtctaccctg	240
gatagcggta ttccgtctcg tttctccggt agcggtagcg gtaccgaatt cagctgacc	300
attagctccc tccagccgga ggactttgct acctattact gcctccaggg cactcatttt	360
ccgcacactt tcggccaggg taccaaactg gaaatcaaac gtacggtagc ggccccatct	420
gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc	480
ctgtgaata acttctatcc cagagaggcc aaagtacagt ggaagggtga taacgcctc	540
caatcgggta actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc	600
ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt ctacgcctgc	660
gaagtcaccc atcagggcct gagctcacca gtaacaaaaa gttttaatag aggggagtgt	720

10

<210> 27
<211> 239
<212> PRT
<213> Artificial

15

<220>

<223> Cadena ligera de 1519gL20 con secuencia señal (expresión en mamíferos)

<400> 27

20

Met	Ser	Val	Pro	Thr	Gln	Val	Leu	Gly	Leu	Leu	Leu	Leu	Trp	Leu	Thr	1	5	10	15
Asp	Ala	Arg	Cys	Asp	Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Leu	Ser	20	25	30	
Ala	Ser	Val	Gly	Asp	Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Lys	Ser	Ser	Gln	Ser	35	40	45	
Leu	Val	Gly	Ala	Ser	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Tyr	Trp	Leu	Phe	Gln	Lys	50	55	60	
Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Thr	Leu	Asp	65	70	75	80
Ser	Gly	Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe	85	90	95	
Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr	100	105	110	
Cys	Leu	Gln	Gly	Thr	His	Phe	Pro	His	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys	115	120	125	
Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro	130	135	140	
Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu	145	150	155	160
Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp	165	170	175	
Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp	180	185	190	
Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys	195	200	205	
Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln	210	215	220	
Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	225	230	235		

<210> 28
 <211> 717
 <212> ADN
 <213> Artificial

5

<220>
 <223> Cadena ligera de 1519gL20 con secuencia señal (expresión en mamíferos)

10

<400> 28

```

atgtctgtcc ccacccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga tgccagatgc      60
gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga tcgcgtgaca      120
attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg      180
ctctttcaga agcctggcaa ggcaccaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac      240
tctgggatac cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcagcatt      300
tcacgctgc aacccgagga ctttctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt      360
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc cccatctgtc      420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg      480
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa      540
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc      600
agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa      660
gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt      717
    
```

<210> 29
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Artificial

15

<220>
 <223> Región V de 1519gH20

20

<400> 29

```

Glu Val Pro Leu Val 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 Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20                25                30
    
```

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser
115

<210> 30
<211> 348
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Región V de 1519gH20 (expresión en E. coli)
<400> 30

gaggttccgc tggtcgagtc tggaggcggg cttgtccagc ctggagggag cctgcgtctc 60
tcttgtgcag tatctggctt cacgttctcc aactacggta tgggtgtgggt tcgtcaggct 120
ccaggtaaag gtctggaatg ggtggcgtat attgactccg acggcgacaa cacctactat 180
cgcgactctg tgaaaggctc cttcaccatt tcccgcgata acgccaatc cagcctgtac 240
ctgcagatga acagcctgcg tgctgaagat actgcggtgt actattgcac cactggcatc 300
gtgcgtccgt ttctgtattg gggtcagggt accctcgta ctgtctcg 348

<210> 31
<211> 348
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Región V de 1519gH20 (expresión en mamíferos)
<400> 31

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc 60
 tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca 120
 cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat 180
 cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccagata acgccaagag ctactgtac 240
 ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc 300
 gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttgggta ctgtctcg 348

<210> 32

<211> 137

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Región V de 1519gH20 (expresión en E. coli)

<400> 32

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

Thr Val Ala Gln Ala Glu Val Pro Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
 20 25 30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe
 35 40 45

Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
 50 55 60

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

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

Lys Ser Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
 100 105 110

Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp
 115 120 125

Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
 130 135

<210> 33

<211> 411
 <212> ADN
 <213> Artificial

5 <220>
 <223> Región V de 1519gH20 (expresión en E. coli)
 <400> 33

atgaagaaga ctgctatagc aattgcagtg gcgctagctg gtttcgccac cgtggcgcaa	60
gctgagggttc cgctggtcga gtctggaggc gggcttgctc agcctggagg gagcctgcgt	120
ctctcttggtg cagtatctgg cttcacgttc tccaactacg gtatggtgtg ggttcgtcag	180
gctccaggta aaggctctgga atgggtggcg tatattgact ccgacggcga caacacctac	240
tatcgcgact ctgtgaaagg tcgcttcacc atttcccgcg ataacgcaa atccagcctg	300
tacctgcaga tgaacagcct gcgtgctgaa gatactgcgg tgtactattg caccactggc	360
atcgtgcgtc cgtttctgta ttggggtcag ggtaccctcg ttactgtctc g	411

10

<210> 34
 <211> 135
 <212> PRT
 <213> Artificial

15

<220>
 <223> Región V de 1519gH20 (expresión en mamíferos)

20

<400> 34

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
130 135

<210> 35
<211> 405
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Región V de 1519gH20 con secuencia señal (expresión en mamíferos)
<400> 35

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag 60

gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct 120

tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct 180

ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg 240

gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg 300

cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt 360

aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcg 405

<210> 36
<211> 228

<212> PRT
<213> Artificial

<220>

5 <223> Cadena pesada de Fab' de 1519gH2O (V + CH1 de gamma 1 humana + bisagra)

<400> 36

Glu	Val	Pro	Leu	Val	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	Phe	Thr	Phe	Ser	Asn	Tyr	20	25	30	
Gly	Met	Val	Trp	Val	Arg	Gln	Ala	Pro	Gly	Lys	Gly	Leu	Glu	Trp	Val	35	40	45	
Ala	Tyr	Ile	Asp	Ser	Asp	Gly	Asp	Asn	Thr	Tyr	Tyr	Arg	Asp	Ser	Val	50	55	60	
Lys	Gly	Arg	Phe	Thr	Ile	Ser	Arg	Asp	Asn	Ala	Lys	Ser	Ser	Leu	Tyr	65	70	75	80
Leu	Gln	Met	Asn	Ser	Leu	Arg	Ala	Glu	Asp	Thr	Ala	Val	Tyr	Tyr	Cys	85	90	95	
Thr	Thr	Gly	Ile	Val	Arg	Pro	Phe	Leu	Tyr	Trp	Gly	Gln	Gly	Thr	Leu	100	105	110	
Val	Thr	Val	Ser	Ser	Ala	Ser	Thr	Lys	Gly	Pro	Ser	Val	Phe	Pro	Leu	115	120	125	
Ala	Pro	Ser	Ser	Lys	Ser	Thr	Ser	Gly	Gly	Thr	Ala	Ala	Leu	Gly	Cys	130	135	140	

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
180 185 190

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His
210 215 220

Thr Cys Ala Ala
225

<210> 37
<211> 684
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Cadena pesada de Fab' de 1519gH2O (V + CH1 de gamma 1 humana + bisagra, expresión en E. coli)

<400> 37

gaggttccgc tggtcgagtc tggaggcggg cttgtccagc ctggagggag cctgcgtctc	60
tcttgtgcag tatctggctt cacgttctcc aactacggta tgggtgtgggt tcgtcaggct	120
ccaggtaaag gtctggaatg ggtggcgtat attgactccg acggcgacaa cacctactat	180
cgcgactctg tgaaaggctg cttcaccatt tcccgcgata acgccaaatc cagcctgtac	240
ctgcagatga acagcctgcg tgctgaagat actgcggtgt actattgcac cactggcatc	300
gtgcgtccgt ttctgtattg gggtcagggt accctcgta ctgtctcgag cgcttctaca	360
aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca	480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc cgggctgtcc tacagtcctc aggactctac	540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc	600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttgagcc caaatcttgt	660
gacaaaactc acacatgcgc cgcg	684

<210> 38
<211> 684
<212> ADN
<213> Artificial

<220>

ES 2 732 081 T3

<223> Cadena pesada de Fab' de 1519gH20 (V + CH1 de gamma 1 humana + bisagra, expresión en mamíferos)

<400> 38

5

```
gaggtaccac ttgtggaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc      60
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca      120
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat      180
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccagagata acgccaagag ctactgttac      240
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc      300
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca      360
aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg      420
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca      480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac      540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc      600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttgagcc caaatcttgt      660
gacaaaactc acacatgcgc cgcg                                           684
```

<210> 39

<211> 249

10

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Cadena pesada de Fab' de 1519gH20 con secuencia señal (expresión en E. coli)

15

<400> 39

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

Thr Val Ala Gln Ala Glu Val Pro Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu
      20              25              30

Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Phe
      35              40              45

Thr Phe Ser Asn Tyr Gly Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys
      50              55              60

Gly Leu Glu Trp Val Ala Tyr Ile Asp Ser Asp Gly Asp Asn Thr Tyr
65              70              75              80
```

Tyr Arg Asp Ser Val Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala
 85 90 95
 Lys Ser Ser Leu Tyr Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr
 100 105 110
 Ala Val Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp
 115 120 125
 Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro
 130 135 140
 Ser Val Phe Pro Leu Ala Pro Ser Ser Lys Ser Thr Ser Gly Gly Thr
 145 150 155 160
 Ala Ala Leu Gly Cys Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr
 165 170 175
 Val Ser Trp Asn Ser Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro
 180 185 190
 Ala Val Leu Gln Ser Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr
 195 200 205
 Val Pro Ser Ser Ser Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn
 210 215 220
 His Lys Pro Ser Asn Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser
 225 230 235 240
 Cys Asp Lys Thr His Thr Cys Ala Ala
 245

<210> 40
 <211> 747
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena pesada de Fab' de 1519gH2O con secuencia señal (expresión en E. coli)

<400> 40

```

atgaagaaga ctgctatagc aattgcagtg gcgctagctg gtttcgccac cgtggcgcaa      60
gctgagggttc cgctggtcga gtctggaggc gggcttgctc agcctggagg gagcctgcgt      120
ctctcttggtg cagtatctgg cttcacgttc tccaactacg gtatgggtgtg ggttcgtcag      180
gctccaggta aaggctctga atgggtggcg tatattgact ccgacggcga caacacctac      240
tatcgcgact ctgtgaaagg tcgcttcacc atttcccgcg ataacgcaa atccagcctg      300

tacctgcaga tgaacagcct gcgtgctgaa gatactgogg tgtactattg caccactggc      360
atcgtgcgtc cgtttctgta ttggggtcag ggtaccctcg ttactgtctc gagcgcttct      420
acaaagggcc catcggctct ccccttgga cctcctcca agagcacctc tgggggcaca      480
gcggccctgg gctgcctggt caaggactac ttcccgaac cggtgacggt gtcgtggaac      540
tcaggcgccc tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc      600
tactcctca gcagcgtggt gaccgtgcc tccagcagct tgggcaccca gacctacatc      660
tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtcgaca agaaagttga gcccaaattc      720
tgtgacaaaa ctcacacatg cgccgcg      747

```

<210> 41
 <211> 247
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena pesada de Fab' de 1519gH2O con secuencia señal (expresión en mamíferos)
 <400> 41

Met Glu Trp Ser Trp Val Phe Leu Phe Phe Leu Ser Val Thr Thr Gly
1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln
115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

Lys Thr His Thr Cys Ala Ala
245

<210> 42
<211> 741
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Cadena pesada de Fab' de 1519gH20 con secuencia señal (expresión en mamíferos)

5 <400> 42

```

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag      60
gtaccacttg tggaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct      120
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct      180
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg      240
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg      300
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt      360
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag      420
ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc      480
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctgt gaactcaggc      540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc      600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac      660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtc gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac      720
aaaactcaca catgcgccgc g                                     741

```

10 <210> 43
<211> 444
<212> PRT
<213> Artificial

15 <220>
<223> Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V + constante de gamma 4P humana)

<400> 43

Glu Val Pro Leu Val 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 Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
 20 25 30
 Gly Met Val Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Gly Leu Glu Trp Val
 35 40 45
 Ala Tyr Ile Asp Ser Asp Gly Asp Asn Thr Tyr Tyr Arg Asp Ser Val
 50 55 60
 Lys Gly Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ala Lys Ser Ser Leu Tyr
 65 70 75 80
 Leu Gln Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys
 85 90 95
 Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu
 100 105 110
 Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125
 Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140
 Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160
 Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175
 Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190
 Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205

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

<210> 44
 <211> 1939
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V + constante de gamma 4P humana con exones)

<400> 44

gaggtaccac ttgtgaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc	60
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca	120
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat	180
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccagata acgccaagag ctcaactgtac	240
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc	300
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca	360
aagggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc	420
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca	480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtccctc aggactctac	540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc	600
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttggtga gaggccagca	660
cagggaggga ggtgtgtctg tggaagccag gctcagccct cctgcctgga cgcaccccg	720
ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc atgccccatc tgtctcctca cccggaggcc	780
tctgaccacc cactcatgc ccaggagag ggtcttctgg atttttccac caggctccgg	840
gcagccacag gctggatgcc cctaccccag gccctgcgca tacaggggca ggtgctgcgc	900
tcagacctgc caagagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaac ccacccaaa	960
ggccaaactc tccactccct cagctcagac accttctctc ctcccagatc tgagtaactc	1020
ccaatcttct ctctgcagag tccaaatatg gtcccccattg cccacctatc ccaggttaagc	1080
caaccagggc ctgcacctcc agctcaaggc gggacaggtg ccctagagta gcctgcattc	1140
agggacaggg cccagccggg tgctgacgca tccacctcca tctcttctc agcacctgag	1200
ttcctggggg gacctcagt cttcctgttc cccccaaac ccaaggacac tctcatgac	1260
tcccggaacc ctgaggtcac gtgcgtggtg gtggacgtga gccaggaaga ccccgaggtc	1320
cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag	1380
gagcagttca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg	1440
ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag	1500
aaaaccatct ccaaagccaa aggtgggacc cagggggtgc gagggccaca tggacagagg	1560
tcagctcggc ccacctctg ccctgggagt gaccgctgtg ccaacctctg tccctacagg	1620
gcagccccga gagccacagg tgtacacct gcccccatcc caggaggaga tgaccaagaa	1680
ccaggtcagc ctgacctgcc tgggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg	1740

ES 2 732 081 T3

```

ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga      1800
cggtcccttc ttcctctaca gcaggctaac cgtggacaag agcaggtggc aggaggggaa      1860
tgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacac agaagagcct      1920
ctccctgtct ctgggtaaa                                     1939

```

<210> 45
 <211> 1996
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V + constante de gamma 4P humana) con secuencia señal
 <400> 45

```

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag      60
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct      120
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct      180
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg      240
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg      300
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcgtt      360
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag      420
ggcccatccg tcttcccctt ggcgccttgc tccaggagca cctccgagag cacagccgcc      480
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctgt gaactcaggc      540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc      600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cgaagaccta cacctgcaac      660
gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag ttggtgagag gccagcacag      720
ggaggagggg tgtctgctgg aagccaggct cagccctcct gcctggacgc accccggctg      780
tgcagcccca gccagggca gcaaggcatg ccccatctgt ctccctaccc ggaggcctct      840
gaccacccca ctcatgcca gggagagggt cttctggatt ttccaccag gctccgggca      900
gccacagggt ggatgccctt accccaggcc ctgoccatag aggggcaggt gctgcgtca      960
gacctgcca gagccatctc cgggaggacc ctgccctga cctaagccca ccccaaaggc      1020
caaaactctc actccctcag ctacagacacc ttctctctc ccagatctga gtaactccca      1080
atcttctctc tgcagagtcc aaatatgggt ccccatgccc accatgcca ggtaagccaa      1140
cccaggcctc gccctccagc tcaaggcggg acaggtgccc tagagtagcc tgcatccagg      1200
gacagcccc agccgggtgc tgacgcatcc acctccatct ctctccagc acctgagttc      1260
ctggggggac catcagttct cctgttcccc ccaaaaccca aggacactct catgatctcc      1320

```

```

cggaccctg aggtcacgtg cgtggtggtg gacgtgagcc aggaagaccc cgaggtccag      1380
ttcaactggt acgtggatgg cgtggaggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag      1440
cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcttcaccg tcctgcacca ggactggctg      1500
aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaaggcc tcccgtcctc catcgagaaa      1560
accatctcca aagccaaagg tgggaccac ggggtgcgag ggccacatgg acagaggtca      1620
gctcggccca ccctctgccc tgggagtgcg cgctgtgcca acctctgtcc ctacagggca      1680
gccccgagag ccacaggtgt acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca      1740
ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctaccacagc gacatcgccg tggagtggga      1800
gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgect cccgtgctgg actccgacgg      1860
ctccttcttc ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt      1920
cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc      1980
cctgtctctg ggtaaa                                                    1996

```

<210> 46
 <211> 347
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena ligera de FabFv de 1519gL20
 <400> 46

```

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

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

Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Lys Pro Gly Lys Ala
35          40          45

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

Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile
65          70          75          80

Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly
85          90          95

Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100         105         110

```

Arg Thr Val Ala Ala Pro Ser Val Phe Ile Phe Pro Pro Ser Asp Glu
115 120 125

Gln Leu Lys Ser Gly Thr Ala Ser Val Val Cys Leu Leu Asn Asn Phe
130 135 140

Tyr Pro Arg Glu Ala Lys Val Gln Trp Lys Val Asp Asn Ala Leu Gln
145 150 155 160

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Ser Gly Gly Gly Gly
210 215 220

Ser Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr
225 230 235 240

Gln Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile
245 250 255

Thr Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser Trp Tyr
260 265 270

Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser
275 280 285

Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly
290 295 300

Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala
305 310 315 320

Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr Phe
325 330 335

Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
340 345

<210> 47
<211> 1041
<212> ADN
<213> Artificial

<220>

<223> Cadena ligera de FabFv de 1519gL20

<400> 47

```

gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga tcgcgtgaca      60
attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg      120
ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac      180
tctgggatac cgtcacgatt ttccgcatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt      240
tcacgcgtgc aaccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt      300
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc cccatctgtc      360
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg      420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa      480
tcgggtaact cccagagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctg      540
agcagcaccg tgacgtgtc taaagcagac tacgagaaac acaaagtgtg cgcctgcgaa      600
gtcaccatc agggcctgag ctcaccagta acaaaaagtt ttaatagagg ggagtgtagc      660
ggtggcggtg gcagtgggtg gggaggctcc ggaggtggcg gttcagacat acaaatgacc      720
cagagtcctt catcgggtatc cgcgtccgtt ggcgataggg tgactattac atgtcaaagc      780
tctcctagcg tctggagcaa ttttctatcc tggatcaac agaaaccggg gaaggctcca      840
aaacttctga tttatgaagc ctcgaaactc accagtggag ttccgtcaag attcagtggc      900
tctggatcag ggacagactt cacgttgaca atcagttcgc tgcaaccaga ggactttgcg      960
acctactatt gtggtggagg ttacagtagc ataagtata cgacatttgg gtgcggtact     1020
aaggtggaaa tcaaacgtac c                                           1041

```

5

<210> 48

<211> 367

<212> PRT

<213> Artificial

10

<220>

<223> Cadena ligera de FabFv de 1519gL20 con secuencia señal

15

<400> 48

Met Ser Val Pro Thr Gln Val Leu Gly Leu Leu Leu Leu Trp Leu Thr
1 5 10 15

Asp Ala Arg Cys Asp Ile Gln Met Thr Gln Ser Pro Ser Ser Leu Ser
20 25 30

Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr Cys Lys Ser Ser Gln Ser

35					40					45					
Leu	Val	Gly	Ala	Ser	Gly	Lys	Thr	Tyr	Leu	Tyr	Trp	Leu	Phe	Gln	Lys
50					55					60					
Pro	Gly	Lys	Ala	Pro	Lys	Arg	Leu	Ile	Tyr	Leu	Val	Ser	Thr	Leu	Asp
65					70					75					80
Ser	Gly	Ile	Pro	Ser	Arg	Phe	Ser	Gly	Ser	Gly	Ser	Gly	Thr	Glu	Phe
				85					90					95	
Thr	Leu	Thr	Ile	Ser	Ser	Leu	Gln	Pro	Glu	Asp	Phe	Ala	Thr	Tyr	Tyr
			100					105					110		
Cys	Leu	Gln	Gly	Thr	His	Phe	Pro	His	Thr	Phe	Gly	Gln	Gly	Thr	Lys
		115					120					125			
Leu	Glu	Ile	Lys	Arg	Thr	Val	Ala	Ala	Pro	Ser	Val	Phe	Ile	Phe	Pro
130						135					140				
Pro	Ser	Asp	Glu	Gln	Leu	Lys	Ser	Gly	Thr	Ala	Ser	Val	Val	Cys	Leu
145					150					155					160
Leu	Asn	Asn	Phe	Tyr	Pro	Arg	Glu	Ala	Lys	Val	Gln	Trp	Lys	Val	Asp
				165					170					175	
Asn	Ala	Leu	Gln	Ser	Gly	Asn	Ser	Gln	Glu	Ser	Val	Thr	Glu	Gln	Asp
			180					185					190		
Ser	Lys	Asp	Ser	Thr	Tyr	Ser	Leu	Ser	Ser	Thr	Leu	Thr	Leu	Ser	Lys
		195					200					205			
Ala	Asp	Tyr	Glu	Lys	His	Lys	Val	Tyr	Ala	Cys	Glu	Val	Thr	His	Gln
210						215					220				
Gly	Leu	Ser	Ser	Pro	Val	Thr	Lys	Ser	Phe	Asn	Arg	Gly	Glu	Cys	Ser
225					230					235					240
Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Gly	Gly	Gly	Gly	Ser	Asp
				245					250					255	
Ile	Gln	Met	Thr	Gln	Ser	Pro	Ser	Ser	Val	Ser	Ala	Ser	Val	Gly	Asp
			260					265					270		
Arg	Val	Thr	Ile	Thr	Cys	Gln	Ser	Ser	Pro	Ser	Val	Trp	Ser	Asn	Phe
			275			280						285			

Leu Ser Trp Tyr Gln Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile
290 295 300

Tyr Glu Ala Ser Lys Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
305 310 315 320

Ser Gly Ser Gly Thr Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
325 330 335

Glu Asp Phe Ala Thr Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser
340 345 350

Asp Thr Thr Phe Gly Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
355 360 365

<210> 49
<211> 1101
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Cadena ligera de FabFv de 1519gL20 con secuencia señal

<400> 49

```

atgtctgtcc ccaccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga tgccagatgc      60
gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga tcgcgtgaca      120
attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg      180
ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac      240
tctgggatac cgtcacgatt ttccggtatc gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt      300
tcatcgtctc aaccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt      360
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc cccatctgtc      420
ttcatcttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg      480
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cgcctcccaa      540
tcgggtaact ccagggagag tgcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctg      600
agcagcaccg tgacgctgtc taaagcagac tacgagaaac acaaagtgtg cgctgcgaa      660
gtcaccctac agggcctgag ctaccagta acaaaaagtt ttaatagagg ggagtgtagc      720
ggtggcggtg gcagtggtag gggaggctcc ggaggtggcg gttcagacat acaaatgacc      780
cagagtcctt catcgggtac cgcgtccgtt ggcgataggg tgactattac atgtcaaagc      840
tctcctagcg tctggagcaa ttttctatcc tggatcaac agaaaccggg gaaggctcca      900
aaacttctga tttatgaagc ctcgaaactc accagtggag ttccgtcaag attcagtggc      960
tctggatcag ggacagactt cacgttgaca atcagttcgc tgcaaccaga ggactttgcg     1020

acctactatt gtggtggagg ttacagtagc ataagtgata cgacatttgg gtgcggtact     1080
aagggtgaaa tcaaacgtac c                                         1101

```

<210> 50
 <211> 357
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena pesada de FabFv de 1519gH20

<400> 50

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

Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn
195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Ser Gly Gly Gly
210 215 220

Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Gly Gly Ser Glu Val Gln Leu
225 230 235 240

Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser Leu Arg Leu
245 250 255

Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala Ile Asn Trp
260 265 270

Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile Gly Ile Ile Trp
275 280 285

Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly Arg Phe Thr
290 295 300

Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln Met Asn Ser
305 310 315 320

Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg Thr Val Pro
325 330 335

Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln Gly Thr Leu
340 345 350

Val Thr Val Ser Ser
355

<210> 51
<211> 1071
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Cadena pesada de FabFv de 1519gH20

<400> 51

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggagggaag tttacgtctc 60
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca 120
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat 180
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctcaactgtac 240
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc 300

gtaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcgtccaca 360
aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420
gccctgggct gcctggtaa ggactacttc cccgaaccag tgacggtgtc gtggaactca 480
ggtgccctga ccagcggcgt tcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac 540
tccctgagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc 600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgataaga aagttgagcc caaatcttgt 660
agtggaggtg ggggctcagg tggaggcggg accggtggag gtggcagcga ggttcaactg 720
cttgagtctg gaggaggcct agtcagcct ggaggagcc tgcgtctctc ttgtgcagta 780
agcggcatcg acctgagcaa ttacgccatc aactgggtga gacaagctcc ggggaagtgt 840
ttagaatgga tcggtataat atgggccagt gggacgacct tttatgctac atgggcgaaa 900
ggaaggttta caattagccg ggacaatagc aaaaacaccg tgtatctcca aatgaactcc 960
ttgcgagcag aggacacggc ggtgtactat tgtgtctgca ctgtcccagg ttatagcact 1020
gcaccctact tcgatctgtg gggacaaggg accctggtga ctgtttcaag t 1071

<210> 52
<211> 376
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Cadena pesada de FabFv de 1519gH20 con secuencia señal
<400> 52

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

Tyr Tyr Cys Thr Thr Gly Ile Val Arg Pro Phe Leu Tyr Trp Gly Gln
 115 120 125

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

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

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

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

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

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

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

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Thr Gly Gly Gly Gly Ser Glu
 245 250 255

Val Gln Leu Leu Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly Ser
 260 265 270

Leu Arg Leu Ser Cys Ala Val Ser Gly Ile Asp Leu Ser Asn Tyr Ala
 275 280 285

Ile Asn Trp Val Arg Gln Ala Pro Gly Lys Cys Leu Glu Trp Ile Gly
 290 295 300

Ile Ile Trp Ala Ser Gly Thr Thr Phe Tyr Ala Thr Trp Ala Lys Gly
 305 310 315 320

Arg Phe Thr Ile Ser Arg Asp Asn Ser Lys Asn Thr Val Tyr Leu Gln
 325 330 335

Met Asn Ser Leu Arg Ala Glu Asp Thr Ala Val Tyr Tyr Cys Ala Arg
 340 345 350

Thr Val Pro Gly Tyr Ser Thr Ala Pro Tyr Phe Asp Leu Trp Gly Gln

355

360

365

Gly Thr Leu Val Thr Val Ser Ser
370 375

5

<210> 53
<211> 1128
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Cadena pesada de FabFv de 1519gH20 con secuencia señal

<400> 53

```

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag      60
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct      120
tgtgtctgtg ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct      180
ggaaagggtc ttgaatgggt ggctatatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg      240
gattccgtga aaggaogctt cacaatctcc cgagataacg coaagagctc actgtacctg      300
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcgtt      360
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc gtccacaaaag      420
ggcccatcgg tcttccccc ttccaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc      480
ctgggctgcc tggccaagga ctacttcccc gaaccagtga cgggtgtcgtg gaactcaggt      540
gccctgacca gggcggttca caccctcccg gctgtcctac agtcttcagg actctactcc      600
ctgagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagacctc catctgcaac      660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtc gataagaaag ttgagcccaa atcttgtagt      720
ggaggtgggg gctcaggtgg aggcgggacc ggtggaggtg gcagcgaggt tcaactgctt      780
gagtcctggag gaggcctagt ccagcctgga gggagcctgc gtctctcttg tgcagtaagc      840
ggcatcgacc tgagcaatta cgccatcaac tgggtgagac aagctccggg gaagtgttta      900
gaatggatcg gtataatatg ggccagtggg acgacctttt atgctacatg ggcgaaagga      960
aggtttacaa ttagccggga caatagcaaa aacaccgtgt atctccaat gaactccttg      1020
cgagcagagg acacggcggg gtactattgt gctogcactg tcccaggtta tagcactgca      1080
ccctacttcg atctgtgggg acaagggacc ctggtgactg tttcaagt      1128

```

15

<210> 54
<211> 107
<212> PRT
<213> Artificial

20

<220>
<223> Marco aceptor de VK1 2-1-(1) A30 JK2 humano

ES 2 732 081 T3

<400> 54

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

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

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

Tyr Ala Ala Ser Ser Leu Gln Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly
50 55 60

Ser Gly Ser Gly Thr Glu Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro
65 70 75 80

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

Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
100 105

5

<210> 55
<211> 321
<212> ADN
<213> Artificial

10

<220>
<223> Marco aceptor de VK1 2-1-(1) A30 JK2 humano

15

<400> 55

gacatccaga tgaccacagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga cagagtcacc 60
atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag gctggatatca gcagaaacca 120
gggaaagccc ctaagcgcct gatctatgct gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca 180
aggttcagcg gcagtggatc tgggacagaa ttcactctca caatcagcag cctgcagcct 240
gaagattttg caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccttacac ttttggccag 300
gggaccaagc tggagatcaa a 321

20

<210> 56
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

25

<220>
<223> Marco aceptor VH3 1-33-07JH4 humano
<400> 56

ES 2 732 081 T3

Glu Val Gln Leu Val Glu Ser Gly Gly Gly Leu Val Gln Pro Gly Gly

1 5 10 15

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

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

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

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

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

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

<210> 57
<211> 336
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Marco acceptor VH3 1-33-07JH4 humano

<400> 57

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggc cctgagactc 60
tcctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctattgga tgagctgggt ccgccaggct 120
ccaggggaagg ggctggagtg ggtggccaac ataaagcaag atggaagtga gaaatactat 180
gtggactctg tgaagggccg attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctcaactgtat 240
ctgcaaatga acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagatacttt 300
gactactggg gccaggaac cctggtcacc gtctcc 336

<210> 58
<211> 112
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> Región VL del Ac 1548 de rata

<400> 58

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

<210> 59
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Región VL del Ac 1548 de rata

<400> 59

gatgttgtga	tgacccagac	tccactgtct	ttgtcggttg	cccttgga	accagcctcc	60
atctcttgca	agtcaagtca	gagcctcgta	ggtgctagt	gaaagacata	tttgtattgg	120
ttatttcaga	ggtccggcca	gtctccaaag	cgactaatct	atctggtgtc	cacactggac	180
tctggaattc	ctgatagggt	cagtggcagt	ggagcagaga	cagattttac	tcttaaaatc	240
cgcagagtgg	aagccgatga	tttgggagtt	tattactgct	tgcaaggtac	acattttcct	300
cacacgtttg	gagctgggac	caagctggaa	ataaaa			336

<210> 60
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Región VH del Ac 1548 de rata

<400> 60

ES 2 732 081 T3

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

<210> 61
 <211> 348
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Región VH del Ac 1548 de rata

<400> 61

gaggtgccgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc catgaaactc 60
 tctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca tgggtctgggt ccgccaggct 120
 ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat attgattctg atggtgataa tacttactac 180
 cgagattccg tgaaggggccg attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat 240
 ttgcaaatgg acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt 300
 gtccggccct ttctctattg gggccaagga gtcattgtca cagtctcg 348

<210> 62
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Región VL del Ac 1644 de rata

<400> 62

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

<210> 63
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Región VL del Ac 1644 de rata
 <400> 63

gatgttgtga tgaccagac tccactgtct ttgtcggttg ccattggaca accagcctcc 60
 atctcttgca agtcaagtca ggcctcgta ggtgctagt gaaagacata tttgtattgg 120
 ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag cgactaatct atctggtgtc cacactggac 180
 tctggaattc ctgatagggt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc 240
 cgcagagtgg aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaagggtac acattttcct 300
 cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ctgaaa 336

<210> 64
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Región VH del Ac 1644 de rata
 <400> 64

ES 2 732 081 T3

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

<210> 65
 <211> 348
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Región VH del Ac 1644 de rata
 <400> 65

gaggtgccgc tgggtggagtc tgggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc cacgaaactc 60
 tcctgtgtag totcaggatt cactttcagt aactatggca tgggtctgggt ccgccaggct 120
 ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat attggttctg atggtgataa tatttactac 180
 cgagattccg tgaagggtcg attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat 240
 ttgcaaattgg acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt 300
 gtccggccct ttctctactg gggccaagga accacgggtca ccgtctcg 348

<210> 66
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>

ES 2 732 081 T3

<223> Región VK del Ac 1496 de rata

<400> 66

```

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

Gln Pro Ala Ser Ile Ser Cys Lys Ser Ser Gln Ser Leu Val Gly Ala
          20          25          30

Ser Gly Lys Thr Tyr Leu Tyr Trp Leu Phe Gln Arg Ser Gly Gln Ser
          35          40          45

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

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

Arg Arg Val Glu Ala Asp Asp Leu Gly Val Tyr Tyr Cys Leu Gln Gly
          85          90          95

Thr His Phe Pro His Thr Phe Gly Ala Gly Thr Lys Leu Glu Leu Lys
          100          105          110

```

5

<210> 67

<211> 336

<212> ADN

10 <213> Artificial

<220>

<223> Región VK del Ac 1496 de rata

15 <400> 67

```

gatgttgtga tgaccagac tccactgtct ttgtcggttg cccttgaca accagcctcc      60
atctcttgca agtcaagtc gagcctcgta ggtgctagt gaaagacata tttgtattgg      120
ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag cgactaatct atctggtgtc cacactggac      180
tctggaattc ctgatagggt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc      240
cgcagagtgg aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct      300
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ctgaaa                                336

```

<210> 68

20 <211> 116

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

25 <223> Región VH del Ac 1496 de rata

<400> 68

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

<210> 69
<211> 348
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Región VH del Ac 1496 de rata
<400> 69

gaggtgctgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc catgaaactc 60
tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca tggctctgggt ccgccaggct 120
ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat attgattctg atggtgataa tacttactac 180
cgagattccg tgaagggccg attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat 240
ttgcaaatgg acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt 300
gtccggccct ttctctattg gggccaagga accatggtca ccgtctcg 348

<210> 70
<211> 14
<212> PRT
<213> Artificial

<220>
<223> marco
<400> 70

Tyr Phe Asp Tyr Trp Gly Gln Gly Thr Leu Val Thr Val Ser
1 5 10

5 <210> 71
 <211> 12
 <212> PRT
 <213> Artificial

10 <220>
 <223> marco
 <400> 71

Tyr Thr Phe Gly Gln Gly Thr Lys Leu Glu Ile Lys
1 5 10

15 <210> 72
 <211> 447
 <212> PRT
 <213> Artificial

20 <220>
 <223> Cadena pesada de IgG1 de 1519gH20 (V + constante de gamma -1 humana)
 <400> 72

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

	180		185		190
Leu Gly Thr Gln Thr Tyr Ile Cys Asn Val Asn His Lys Pro Ser Asn	195		200		205
Thr Lys Val Asp Lys Lys Val Glu Pro Lys Ser Cys Asp Lys Thr His	210		215		220
Thr Cys Pro Pro Cys Pro Ala Pro Glu Leu Leu Gly Gly Pro Ser Val	225		230		235
Phe Leu Phe Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr	245		250		255
Pro Glu Val Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser His Glu Asp Pro Glu	260		265		270
Val Lys Phe Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys	275		280		285
Thr Lys Pro Arg Glu Glu Gln Tyr Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser	290		295		300
Val Leu Thr Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys	305		310		315
Cys Lys Val Ser Asn Lys Ala Leu Pro Ala Pro Ile Glu Lys Thr Ile	325		330		335
Ser Lys Ala Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro	340		345		350
Pro Ser Arg Asp Glu Leu Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu	355		360		365
Val Lys Gly Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn	370		375		380
Gly Gln Pro Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser	385		390		395
Asp Gly Ser Phe Phe Leu Tyr Ser Lys Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg	405		410		415
Trp Gln Gln Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu	420		425		430
His Asn His Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Pro Gly Lys	435		440		445

<211> 1947
<212> ADN
<213> Artificial

5

<220>
<223> Cadena pesada de IgG1 de 1519gH20 (V + constante de gamma -1 humana con exones)

<400> 73

```

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc      60
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca      120
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat      180
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctcaactgtac      240
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc      300
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttgggta ctgtctcgag cgcttctaca      360
aagggcccat cggctcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg      420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca      480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcctc aggactctac      540
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc      600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttggtga gaggccagca      660
cagggaggga ggggtgtctgc tggaaagccag gctcagcgct cctgcctgga cgcatcccgg      720
ctatgcagcc ccagtccagg gcagcaaggc agggcccgtc tgcctcttca cccggaggcc      780
tctgcccgcc ccactcatgc tcagggagag ggtcttctgg ctttttcccc aggtctctggg      840
caggcacagg ctaggtgccc ctaaccagc ccctgcacac aaaggggcag gtgctgggct      900
cagacctgcc aagagccata tccgggagga ccctgcccct gacctaaagg caccctaaag      960
gccaaactct ccactccctc agctcggaca ctttctctcc tcccagatct gagtaactcc     1020
caatcttctc tctgcagagc ccaaactctg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc     1080
aggtaagcca gccaggcct cgccctccag ctcaaggcgg gacaggtgcc ctagagtagc     1140
ctgcatccag ggacaggccc cagccgggtg ctgacacgtc cacctccatc tcttccctcag     1200
cacctgaact cctgggggga ccgtcagtct tctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc     1260
tcatgatctc ccggaccct gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc     1320
ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc     1380
cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtccctgcacc     1440
aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggctct caacaaagcc ctcccagccc     1500

```

10

ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag gtgggacccg tgggggtgca gggccacatg	1560
gacagaggcc ggctcggccc accctctgcc ctgagagtga ccgctgtacc aacotctgtc	1620
cctacagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg	1680
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc	1740
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccggtgctg	1800
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccc tggacaagag caggtggcag	1860
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag	1920
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa	1947

<210> 74
 <211> 2004
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena pesada de IgG1 de 1519gH20 (V + constante de gamma -1 humana) con secuencia señal
 <400> 74

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag	60
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct	120
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct	180
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg	240
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg	300
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt	360
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag	420
ggcccatcgg tcttccccct ggcaacctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc	480
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgcgtg gaactcaggc	540
gccctgacca gggcggtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc	600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac	660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtc gacaagaaag ttggtgagag gccagcacag	720
ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagcgctcct gcctggacgc atcccggcta	780
tgcagcccca gtccagggca gcaaggcagg ccccgctctgc ctcttcaccc ggaggcctct	840
gcccgcccca ctcattgctca gggagagggt cttctggctt tttcccagg ctctgggcag	900
gcacaggcta ggtgccccta acccaggccc tgcacacaaa ggggcagggt ctgggctcag	960
acctgccaaag agccatatcc gggaggaccc tgcccctgac ctaagcccac cccaaaggcc	1020
aaactctcca ctccctcagc tcggacacct tctctcctcc cagatctgag taactcccaa	1080

```

tcttctctct gcagagccca aatcttgtga caaaactcac acatgcccac cgtgccaggg 1140
taagccagcc caggcctogc cctccagctc aaggcgggac aggtgcccta gagtagcctg 1200
catccaggga caggccccag cggggtgctg acacgtccac ctccatctct tcctcagcac 1260
ctgaactcct ggggggaccc tcagttcttc ttttccccc aaaaccaag gacaccctca 1320
tgatctcccg gaccctgag gtcacatgcg tgggtgtgga cgtgagccac gaagaccctg 1380
aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaa acaaagccgc 1440
gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg 1500
actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccc 1560
tcgagaaaac catctccaaa gccaaaggtg ggaccctgtg ggtgcgaggg ccacatggac 1620
agaggccggc tcggcccacc ctctgccctg agagtgaccg ctgtaccaac ctctgtccct 1680
acagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgccc catcccggga tgagctgacc 1740
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg 1800
gagtgaggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac 1860
tcggacggct ccttcttct ctacagcaag ctaccctggg acaagagcag gtggcagcag 1920
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctg acaaccacta cagcgagaag 1980
agcctctccc tgtctccggg taaa 2004

```

<210> 75
 <211> 657
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena ligera de 1519gL20 (V + constante, expresión alternativa en mamíferos)
 <400> 75

gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga tcgctgaca 60
 attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg 120
 ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac 180
 tctgggatac cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt 240
 tcatcgctgc aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt 300
 cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc cccatctgtc 360
 ttcattcttc cggcatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgctg 420
 ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtggg aggtggataa cggcctccaa 480
 tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc 540
 agcagcaccg tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa 600
 gtcacccatac agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt 657

<210> 76
 <211> 684
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena pesada de Fab' de 1519gH20 (V + CH1 de gamma 1 humana + bisagra, expresión en mamíferos una base cambiada de SEQ ID NO: 38)

<400> 76

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc 60
 tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca 120
 cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat 180
 cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccagata acgccaagag ctcaactgtac 240
 ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc 300
 gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca 360
 aagggcccat cggctcttcc cctggcaccg tctccaaga gcacctctgg gggcacagcg 420
 gccctgggct gcctgtgcaa ggactacttc ccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca 480
 ggcgcctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac 540
 tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc 600
 aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt 660
 gacaaaactc acacatgcgc cgcg 684

<210> 77
 <211> 741
 <212> ADN

<213> Artificial

<220>

5 <223> Cadena pesada de Fab' de 1519gH20 con secuencia señal (expresión en mamíferos una base cambiada de SEQ ID NO: 42)

<400> 77

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag	60
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct	120
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct	180
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg	240
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg	300
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcgtt	360
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag	420
ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc	480
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgcgtg gaactcaggc	540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc	600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagacctc catctgcaac	660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaaag ttgagcccaa atcttgtgac	720
aaaactcaca catgcgccgc g	741

10

<210> 78

<211> 346

<212> PRT

<213> Artificial

15

<220>

<223> Cadena ligera de FabFv de 1519gL20 (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 46)

<400> 78

20

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

Ser Gly Asn Ser Gln Glu Ser Val Thr Glu Gln Asp Ser Lys Asp Ser
165 170 175

Thr Tyr Ser Leu Ser Ser Thr Leu Thr Leu Ser Lys Ala Asp Tyr Glu
180 185 190

Lys His Lys Val Tyr Ala Cys Glu Val Thr His Gln Gly Leu Ser Ser
195 200 205

Pro Val Thr Lys Ser Phe Asn Arg Gly Glu Cys Gly Gly Gly Gly Ser
210 215 220

Gly Gly Gly Gly Ser Gly Gly Gly Gly Ser Asp Ile Gln Met Thr Gln
225 230 235 240

Ser Pro Ser Ser Val Ser Ala Ser Val Gly Asp Arg Val Thr Ile Thr
245 250 255

Cys Gln Ser Ser Pro Ser Val Trp Ser Asn Phe Leu Ser Trp Tyr Gln
260 265 270

Gln Lys Pro Gly Lys Ala Pro Lys Leu Leu Ile Tyr Glu Ala Ser Lys
275 280 285

Leu Thr Ser Gly Val Pro Ser Arg Phe Ser Gly Ser Gly Ser Gly Thr
290 295 300

Asp Phe Thr Leu Thr Ile Ser Ser Leu Gln Pro Glu Asp Phe Ala Thr
305 310 315 320

Tyr Tyr Cys Gly Gly Gly Tyr Ser Ser Ile Ser Asp Thr Thr Phe Gly
325 330 335

Cys Gly Thr Lys Val Glu Ile Lys Arg Thr
340 345

<210> 79
<211> 1038
<212> ADN
<213> Artificial

<220>
<223> Cadena ligera de FabFv de 1519gL20 (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 47)

<400> 79

gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc	60
atcacatgca agtcctccca gtccctggtc ggagcctccg gcaagaccta cctgtactgg	120
ctgttccaga agcccggaag ggcccccaag cggtgatct acctggtgtc taccctggac	180
tccggcatcc cctcccgggt ctccggctct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc	240
tccagcctgc agcccgagga cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc	300
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaagcgga ccgtagcggc cccatctgtc	360
ttcatcttcc cggcatctga tgagcagttg aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgctg	420
ctgaataact tctatcccag agaggccaaa gtacagtga aggtggataa cggcctccaa	480
tcgggtaact cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc	540
agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa	600
gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgtggt	660
ggaggtggct ctggcggtgg tggctccgga ggaggaggaa ggcacatcca gatgaccag	720
agcccttctc ctgtaagcgc cagtgtcggg gacagagtga ctattacctg ccaaagctcc	780
ccttcagtct ggtccaattt tctatcctgg tatcagcaa agcccgaaa ggctcctaaa	840
ttgctgatct acgaagcaag caaactcacc agggcggtgc ccagcaggtt cagcggcagt	900
gggtctgga ctgactttac cctgacaatc tcctcactcc agcccgagga cttcgccacc	960
tattactgcg gtggaggtta cagtagcata agtgatacga catttggtg cggcactaaa	1020
gtggaaatca agcgtacc	1038

<210> 80
 <211> 1071
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena pesada de FabFv de 1519gH20 (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 51)
 <400> 80

ES 2 732 081 T3

```

gaggtgcccc tgggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggtc cctgagactg      60
tcttgcgccg tgtccggtt caccttctcc aactacggca tggctctgggt ccgacaggt      120
cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac atcgactccg acggcgacaa cacctactac      180
cgggactccg tgaagggcog gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac      240
ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc      300
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctgggtca cegtgtcctc tgcttctaca      360
aagggcccat cggctcttccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg      420
gccctgggct gcctggtaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgc gtggaactca      480
ggcgccctga ccagcgcggt gcacaccttc cgggtgttc tacagtcctc tggactctac      540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc      600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc caaatcttgt      660

tcoggaggtg goggttcogg aggtggcggg acaggtggcg gtgggtccga agtocagctg      720
ottgaatccg gaggcggact cgtgcagccc ggaggcagtc ttogcttgtc ctgcgctgta      780
tctggaatcg acctgagcaa ttacgccatc aactgggtga gacaggcacc tgggaaatgc      840
ctcgaatgga tcggcattat atgggctagt gggacgacct tttatgctac atgggcgaag      900
ggtagattca caatctcacg ggataatagt aagaacacag tgtacctgca gatgaactcc      960
ctgcgagcag aggataccgc cgtttactat tgtgctcgca ctgtcccagg ttatagcact     1020
gcaccctact ttgatctgtg ggggcagggc actctgggtca cegtctcgtc c           1071

```

<210> 81
 <211> 112
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Región VL del Ac 1548 de rata (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 58)

<400> 81

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

<210> 82
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Región VL del Ac 1548 de rata (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 59)

<400> 82

gatgttgatga	tgaccagac	tccactgtct	ttgtcggttg	ccattggaca	accagcctcc	60
atctcttcta	agtcaagtca	gagcctcgta	gggtgctggg	gaaagacata	tttgtattgg	120
ttattacaga	ggccggcca	gtctccaaag	cgactaatct	atctggtgtc	cacactggac	180
tctggaattc	ctgatagggt	cagtggcagt	ggagcagaga	cagattttac	tcttaaaatc	240
cgcagagtgg	aagccgatga	tttgggagtt	tattactgct	tgcaagggtac	acattttcct	300
cacacgtttg	gagctgggac	caacctggaa	ataaaa			336

<210> 83
 <211> 116
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Región VH del Ac 1548 de rata (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 60)

<400> 83

ES 2 732 081 T3

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

<210> 84
 <211> 348
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Región VH del Ac 1548 de rata (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 61)
 <400> 84

gaggtgccgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggagggtc catgaaactc 60
 tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aactatggca tgggtctgggt ccgccaggct 120
 ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat attggttctg atgggtgataa tacttactac 180
 cgagattccg tgaagggccg attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat 240
 ttgcaaatgg acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt 300
 gtccggccct ttctctactg gggccaagga gtcatggtca cagtctcg 348

<210> 85
 <211> 1947
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena pesada de IgG1 de 1519gH20 (V + constante de gamma -1 humana con exones una base cambiada a SEQ ID NO: 71)
 <400> 85

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt ottgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc	60
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca	120
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat	180
cgggattccg tgaaggacg cttcacaatc tcccagata acgccaagag ctcaactgtac	240
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc	300
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca	360
aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga gcacctctgg gggcacagcg	420
gcctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca	480
ggcgccctga ccagcgggt gcacaccttc ccggtgtcc tacagtcctc aggactctac	540
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttg gcaccagac ctacatctgc	600
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttggtga gaggccagca	660
caggagggga ggggtgtctgc tggaaaccag gctcagcgct cctgcctgga cgcctcccg	720
ctatgcagcc ccagtccagg gcagcaaggc agggcccgtc tgcctcttca cccggaggcc	780
tctgcccgcc ccaactcatgc tcaggagag ggtcttcttg ctttttcccc aggctctggg	840
caggcacagg ctaggtgccc ctaaccagg cctgcacac aaaggggcag gtgctgggct	900
cagacctgcc aagagccata tccgggagga ccctgccct gacctagcc caccocaaag	960
gccaaactct ccactcctc agctggaca cttctctcc tccagatct gagtaactcc	1020
caatcttctc tctgcagagc ccaaattctg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgcc	1080
aggtaagcca gccaggcct cgcctccag ctcaaggcg gacaggtgcc ctagagtagc	1140
ctgcatccag ggacaggccc cagccgggtg ctgacacgtc cacctccatc tcttctcag	1200

```

cacctgaact cctgggggga cgcgcagtct tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc 1260
tcattgatctc cgggaccocct gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc 1320
ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc 1380
cgcggggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc 1440
aggactggct gaatggcaag gagtacaagt gcaaggctct caacaaagcc ctcccagccc 1500
ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag gtgggaccog tggggtgcga gggccacatg 1560
gacagaggcc ggctcgcccc accctctgcc ctgagagtga ccgtgtacc aacctctgtc 1620
cctacagggc agccccgaga accacaggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg 1680
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc 1740
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg 1800
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcacgg tggacaagag caggtggcag 1860
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag 1920
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa 1947

```

<210> 86
 <211> 2004
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena pesada de IgG1 de 1519gH20 (V + constante de gamma -1 humana) con secuencia señal (una base cambiada de SEQ ID NO: 72)

<400> 86

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag	60
gtaccacttg tggaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct	120
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct	180
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg	240
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg	300
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt	360
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag	420
ggcccatcgg tcttccccct ggcacctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc	480
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctgt gaactcaggc	540
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc	600
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac	660
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggt gacaagaaag ttggtgagag gccagcacag	720
ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagcgctcct gcctggacgc atcccggcta	780

ES 2 732 081 T3

```

tgcagcccca gtccagggca gcaaggcagg ccccgctctgc ctcttcaccc ggaggcctct      840
gcccgcccca ctcatgctca gggagaggggt cttctggctt tttccccagg ctctgggcag      900
gcacaggcta ggtgccccta acccaggccc tgcacacaaa ggggcagggtg ctgggctcag      960
acctgccaag agccatatcc gggaggaccc tggccctgac ctaagccac cccaaaggcc      1020
aaactctcca ctccctcagc tcggacacct tctctcctcc cagatctgag taactcccaa      1080
tcttctctct gcagagccca aatcttgtga caaaactcac acatgccac cgtgccagg      1140
taagccagcc caggcctcgc cctccagctc aaggcgggac aggtgcccta gagtagcctg      1200
catccaggga caggccccag ccgggtgctg acacgtccac ctccatctct tcctcagcac      1260
ctgaactcct ggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaaccaag gacaccctca      1320
tgatctcccg gaccctgag gtcacatgcg tgggtgggga cgtgagccac gaagaccctg      1380
aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc      1440
gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg      1500
actggctgaa tggcaaggag tacaagtga aggtctccaa caaagccctc ccagcccca      1560
tcgagaaaaac catctccaaa gccaaagggtg ggaccctggt ggtgcgaggg ccacatggac      1620
agaggccggc tcggcccacc ctctgccctg agagtgaccg ctgtaccaac ctctgtccct      1680
acagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccgga tgagctgacc      1740
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg      1800
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac      1860
tccgacggct cttcttcct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag      1920
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctgc acaaccacta cacgcagaag      1980
agcctctccc tgtctccggg taaa                                         2004

```

<210> 87

<211> 444

<212> PRT

<213> Artificial

<220>

<223> Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V + constante de gamma -4 humana sin mutaciones P)

<400> 87

Glu Val Pro Leu Val 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 Phe Thr Phe Ser Asn Tyr
20 25 30

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

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

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

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

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

Val Thr Val Ser Ser Ala Ser Thr Lys Gly Pro Ser Val Phe Pro Leu
 115 120 125

Ala Pro Cys Ser Arg Ser Thr Ser Glu Ser Thr Ala Ala Leu Gly Cys
 130 135 140

Leu Val Lys Asp Tyr Phe Pro Glu Pro Val Thr Val Ser Trp Asn Ser
 145 150 155 160

Gly Ala Leu Thr Ser Gly Val His Thr Phe Pro Ala Val Leu Gln Ser
 165 170 175

Ser Gly Leu Tyr Ser Leu Ser Ser Val Val Thr Val Pro Ser Ser Ser
 180 185 190

Leu Gly Thr Lys Thr Tyr Thr Cys Asn Val Asp His Lys Pro Ser Asn
 195 200 205

Thr Lys Val Asp Lys Arg Val Glu Ser Lys Tyr Gly Pro Pro Cys Pro
 210 215 220

Ser Cys Pro Ala Pro Glu Phe Leu Gly Gly Pro Ser Val Phe Leu Phe
 225 230 235 240

Pro Pro Lys Pro Lys Asp Thr Leu Met Ile Ser Arg Thr Pro Glu Val
 245 250 255

Thr Cys Val Val Val Asp Val Ser Gln Glu Asp Pro Glu Val Gln Phe
 260 265 270

Asn Trp Tyr Val Asp Gly Val Glu Val His Asn Ala Lys Thr Lys Pro
 275 280 285

Arg Glu Glu Gln Phe Asn Ser Thr Tyr Arg Val Val Ser Val Leu Thr
 290 295 300

Val Leu His Gln Asp Trp Leu Asn Gly Lys Glu Tyr Lys Cys Lys Val
 305 310 315 320

Ser Asn Lys Gly Leu Pro Ser Ser Ile Glu Lys Thr Ile Ser Lys Ala
 325 330 335

Lys Gly Gln Pro Arg Glu Pro Gln Val Tyr Thr Leu Pro Pro Ser Gln
 340 345 350

Glu Glu Met Thr Lys Asn Gln Val Ser Leu Thr Cys Leu Val Lys Gly
 355 360 365

Phe Tyr Pro Ser Asp Ile Ala Val Glu Trp Glu Ser Asn Gly Gln Pro
 370 375 380

Glu Asn Asn Tyr Lys Thr Thr Pro Pro Val Leu Asp Ser Asp Gly Ser
 385 390 395 400

Phe Phe Leu Tyr Ser Arg Leu Thr Val Asp Lys Ser Arg Trp Gln Glu
 405 410 415

Gly Asn Val Phe Ser Cys Ser Val Met His Glu Ala Leu His Asn His
 420 425 430

Tyr Thr Gln Lys Ser Leu Ser Leu Ser Leu Gly Lys
 435 440

<210> 88
 <211> 1939
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V + constante de gamma -4 humana con exones sin mutaciones P)

<400> 88

gaggtaccac ttgtgaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag ttacgtctc 60

tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca 120

cctggaaagg gtottgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat 180

cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctactgtac 240

ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc 300

gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca 360

ES 2 732 081 T3

```

aagggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga gcacctccga gagcacagcc 420
gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca 480
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgttcc tacagtcttc aggactctac 540
tccctcagca gcgtgggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc 600
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagtgggtga gaggccagca 660
caggagggga ggggtgtctgc tggaagccag gctcagccct cctgcctgga cgcaccccg 720
ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc atgccccatc tgtctctca cccggaggcc 780
tctgaccacc ccactcatgc ccaggagag ggtcttctgg atttttccac caggctccgg 840
gcagccacag gctggatgcc cctaccccag gccctgcgca tacaggggca ggtgtctgcgc 900
tcagacctgc caagagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaaag ccacccaaa 960
ggccaaactc tccactccct cagctcagac accttctctc ctcccagatc tgagtaactc 1020
ccaatcttct ctctgcagag tccaaatatg gtcccccattg cccatcatgc ccagtaagc 1080
caaccaggc ctcgccctcc agctcaaggc gggacagggt ccctagagta gcctgcatcc 1140
agggacaggc cccagccggg tgctgacgca tccacctcca tctcttctc agcacctgag 1200
ttcctggggg gaccatcagt ctctctgttc cccccaaac ccaaggacac tctcatgac 1260
tcccgagccc ctgaggtcac gtgcgtggtg gtggacgtga gccaggaaga ccccgaggtc 1320
cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag 1380
gagcagttca acagcacgta ccgtgtggtc agcgtctctca ccgtcctgca ccaggactgg 1440
ctgaacggca aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag 1500
aaaaccatct ccaaagccaa aggtgggacc cacggggtgc gaggggccaca tggacagagg 1560
tcagctcggc ccacctctg ccctgggagt gaccgctgtg ccaacctctg tccctacagg 1620
gcagccccga gagccacagg tgtacacctt gcccccatcc caggaggaga tgaccaagaa 1680
ccaggtcagc ctgacctgcc tggtaaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg 1740
ggagagcaat gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgctg tggactccga 1800
cggctccttc ttcctctaca gcaggctaac cgtggacaag agcagggtggc aggaggggaa 1860
tgtcttctca tgctccgtga tgcatgaggc tctgcacaac cactacacac agaagagcct 1920
ctccctgtct ctgggtaaa 1939

```

<210> 89
 <211> 1996
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V + constante de gamma -4 humana) con secuencia señal - sin mutación P

<400> 89

```

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag      60
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct      120
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct      180
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg      240
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg      300
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt      360
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag      420
ggcccatccg tcttccccct ggcgcctgc tccaggagca cctccgagag cacagccgcc      480
ctgggctgcc tggtaagga ctactcccc gaaccggtga cgggtgctgt gaactcaggc      540
gccctgacca gcggcgtgca caccctcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc      600
ctcagcagcg tggtagccgt gccctccagc agcttgggca cgaagaccta cacctgcaac      660
gtagatcaca agcccagcaa caccaagggt gacaagagag ttggtgagag gccagcacag      720
ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagccctcct gcctggacgc accccggctg      780
tgcagcccca gccagggca gcaaggcatg ccccatctgt ctctcaccg ggaggcctct      840
gaccacccca ctcatgcca gggagagggt cttctggatt tttccaccag gctccgggca      900
gccacaggct ggatgccct accccaggcc ctgcgcatac aggggcaggt gctgcgctca      960
gacctgcca gagccatctc cgggaggacc ctgccctga cctaagccca ccccaaaggc     1020
caaactctcc actccctcag ctcagacacc ttctctctc ccagatctga gtaactccca     1080
atcttctctc tgcagagtcc aaatatggtc ccccatgccc atcatgcca ggtaagccaa     1140
cccaggctc gccctccagc tcaaggcggg acagggtgcc tagagtagcc tgcatccagg     1200
gacaggcccc agccgggtgc tgacgcatcc acctccatct cttcctcagc acctgagttc     1260
ctggggggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaacca aggacactct catgatctcc     1320
cggacccctg aggtcacgtg cgtggtggtg gacgtgagcc aggaagacct cgagggtccag     1380
ttcaactggt acgtggatgg cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag     1440
cagttcaaca gcacgtaccg tgtggtcagc gtcctcaccg tcctgcacca ggactggctg     1500
aacggcaagg agtacaagtg caaggtctcc aacaaaggcc tcccgtcctc catcgagaaa     1560
accatctcca aagccaaagg tgggaccac ggggtgcgag ggccacatgg acagaggcca     1620
gctcggccca ccctctgccc tgggagtgac cgctgtgcca acctctgtcc ctacaggcca     1680
gccccgagag ccacagggtg acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca     1740
ggtcagcctg acctgcctgg tcaaaggctt ctacccagc gacatcgccg tggagtggga     1800
gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg actccgacgg     1860

```

ES 2 732 081 T3

ctccttcttc ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc aggtggcagg aggggaatgt 1920
 cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct gcacaaccac tacacacaga agagcctctc 1980
 cctgtctctg ggtaaa 1996

<210> 90
 <211> 336
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Región V de 1519gL20 (expresión en mamíferos alternativa a la SEQ ID NO: 17)

<400> 90

gacatccaga tgaccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc 60
 atcacatgca agtcctcca gtccctggtc ggagcctccg gcaagaccta cctgtactgg 120
 ctgttccaga agcccgcaa ggccccaaag cggctgatct acctggtgtc taccctggac 180
 tccggcatcc cctcccgtt ctccggtctt ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc 240
 tccagcctgc agcccgagga ctccgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc 300
 cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaag 336

<210> 91
 <211> 657
 <212> ADN
 <213> Artificial

<220>
 <223> Cadena ligera de 1519gL20 (V + constante, expresión en mamíferos) alternativa a la SEQ ID NO: 24)

<400> 91

gacatccaga tgaccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga cagagtgacc 60
 atcacatgca agtcctcca gtccctggtc ggagcctccg gcaagaccta cctgtactgg 120
 ctgttccaga agcccgcaa ggccccaaag cggctgatct acctggtgtc taccctggac 180
 tccggcatcc cctcccgtt ctccggtctt ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc 240
 tccagcctgc agcccgagga ctccgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc 300
 cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaagcgga ccgtggcgc tccctccgtg 360
 ttcattcttc caacctccga cgagcagctg aagtcgggca ccgcctccgt cgtgtgcctg 420
 ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag gtgcagtggg aggtggacaa cgccctgcag 480
 tccggcaact ccaggaatc cgtcacccag caggactcca aggacagcac ctactccctg 540
 tctccacccc tgacctgtc caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgaa 600
 gtgaccacc agggcctgtc cagcccggtg accaagtcct tcaaccgggg cgagtgc 657

<210> 92
 <211> 348

<212> ADN
<213> Artificial

<220>

5 <223> Región V de 1519gH20 (expresión en mamíferos alternativa a la SEQ ID NO: 31)

<400> 92

```

gaggtgcccc tgggtggaatc tggcgggcgga ctggtgcagc ctggcggctc cctgagactg      60
tcttgcgccg tgtccggctt caccttctcc aactacggca tggctctgggt ccgacaggct      120
cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac atcgactccg acggcgacaa cacctactac      180
cgggactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac      240
ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc      300
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctggtca ccgtgtcc      348

```

10

<210> 93
<211> 1332
<212> ADN
<213> Artificial

15

<220>

<223> Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V + constante de gamma 4P humana alternativa a la SEQ ID NO: 44)

20

<400> 93

```

gaggtgcccc tgggtggaatc tggcgggcgga ctggtgcagc ctggcggctc cctgagactg      60
tcttgcgccg tgtccggctt caccttctcc aactacggca tggctctgggt ccgacaggct      120
cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac atcgactccg acggcgacaa cacctactac      180
cgggactccg tgaagggccg gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac      240
ctgcagatga actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc      300
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctggtca ccgtgtctc tgcctccacc      360
aagggccctt ccgtgttccc tctggccctt tgctcccggt ccacctccga gtctaccgcc      420
gctctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgagcccg tgacagtgtc ctggaactct      480
ggcgccctga cctccggcgt gcacaccttc cctgccgtgc tgacgtctc cggcctgtac      540
tccctgtcct ccgtcgtgac cgtgccctcc tccagcctgg gcaccaagac ctacacctgt      600
aacgtggacc acaagccctc caacaccaag gtggacaagc ggggtggaatc taagtacggc      660
cctccctgcc cccctgccc tgcccctgaa tttctgggcy gacctccgt gtccctgttc      720
cccccaaagc ccaaggacac cctgatgatc tcccggaacc ccgaagtgac ctgcgtggtg      780

```

```

gtggacgtgt cccaggaaga tcccagagtc cagttcaatt ggtacgtgga cggcgtggaa      840
gtgcacaatg ccaagaccaa gccagagag gaacagttca actccaccta cggggtggtg      900
tccgtgctga ccgtgctgca ccaggactgg ctgaacggca aagagtacaa gtgcaagggtg      960
tccaacaagg gcctgccctc cagcatcgaa aagaccatct ccaaggccaa gggccagccc     1020
cgcgagcccc aggtgtacac cctgccccct agccaggaag agatgaccaa gaaccagggtg     1080
tccctgacct gtctgggtcaa gggcttctac ccctccgaca ttgccgtgga atgggagtcc     1140
aacggccagc ccgagaacaa ctacaagacc accccccctg tgctggacag cgacgggtcc     1200
ttcttctctgt actctcggct gaccgtggac aagtcccggt ggcaggaagg caacgtcttc     1260
tcctgtctcg tgatgcacga ggccctgcac aaccactaca ccagaagtc cctgtccctg     1320
agcctgggca ag                                     1332

```

<210> 94
 <211> 267
 <212> PRT
 <213> Artificial

<220>
 <223> Secuencia extracelular de la cadena alfa de FcRn

<400> 94

```

Ala Glu Ser His Leu Ser Leu Leu Tyr His Leu Thr Ala Val Ser Ser
1              5              10              15

Pro Ala Pro Gly Thr Pro Ala Phe Trp Val Ser Gly Trp Leu Gly Pro
                20              25              30

Gln Gln Tyr Leu Ser Tyr Asn Ser Leu Arg Gly Glu Ala Glu Pro Cys
                35              40              45

Gly Ala Trp Val Trp Glu Asn Gln Val Ser Trp Tyr Trp Glu Lys Glu
50              55              60

Thr Thr Asp Leu Arg Ile Lys Glu Lys Leu Phe Leu Glu Ala Phe Lys
65              70              75              80

Ala Leu Gly Gly Lys Gly Pro Tyr Thr Leu Gln Gly Leu Leu Gly Cys
                85              90              95

Glu Leu Gly Pro Asp Asn Thr Ser Val Pro Thr Ala Lys Phe Ala Leu
                100             105             110

Asn Gly Glu Glu Phe Met Asn Phe Asp Leu Lys Gln Gly Thr Trp Gly
115             120             125

```

Gly Asp Trp Pro Glu Ala Leu Ala Ile Ser Gln Arg Trp Gln Gln Gln
130 135 140

Asp Lys Ala Ala Asn Lys Glu Leu Thr Phe Leu Leu Phe Ser Cys Pro
145 150 155 160

His Arg Leu Arg Glu His Leu Glu Arg Gly Arg Gly Asn Leu Glu Trp
165 170 175

Lys Glu Pro Pro Ser Met Arg Leu Lys Ala Arg Pro Ser Ser Pro Gly
180 185 190

Phe Ser Val Leu Thr Cys Ser Ala Phe Ser Phe Tyr Pro Pro Glu Leu
195 200 205

Gln Leu Arg Phe Leu Arg Asn Gly Leu Ala Ala Gly Thr Gly Gln Gly
210 215 220

Asp Phe Gly Pro Asn Ser Asp Gly Ser Phe His Ala Ser Ser Ser Leu
225 230 235 240

Thr Val Lys Ser Gly Asp Glu His His Tyr Cys Cys Ile Val Gln His
245 250 255

Ala Gly Leu Ala Gln Pro Leu Arg Val Glu Leu Glu Ser Pro Ala Lys
260 265 270

Ser Ser

<210> 95
<211> 99
<212> PRT
<213> *Homo sapiens*

<400> 95

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

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

Pro Gln Ile Glu Ile Glu Leu Leu Lys Asn Gly Lys Lys Ile Pro Asn
35 40 45

Ile Glu Met Ser Asp Leu Ser Phe Ser Lys Asp Trp Ser Phe Tyr Ile
50 55 60

ES 2 732 081 T3

Leu Ala His Thr Glu Phe Thr Pro Thr Glu Thr Asp Val Tyr Ala Cys
65 70 75 80

Arg Val Lys His Val Thr Leu Lys Glu Pro Lys Thr Val Thr Trp Asp
85 90 95

Arg Asp Met

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a FcRn del mismo que tiene una cadena pesada que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 29 y una cadena ligera que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 15
2. Un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a FcRn del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo es un fragmento scFv, Fv, Fab o Fab'.
3. Un fragmento Fab' de anticuerpo anti-FcRn de acuerdo con la reivindicación 2, que tiene una cadena pesada que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 36 y una cadena ligera que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 22.
4. Un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a FcRn del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3, en donde el anticuerpo o fragmento de unión se conjuga a un polímero, por ejemplo, seleccionado de almidón, albúmina y polietilenglicol.
5. Un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a FcRn del mismo de acuerdo con la reivindicación 4, en donde el polímero es PEG, por ejemplo, con un peso molecular en el intervalo de 5 Da a 50 kDa.
6. Un anticuerpo anti-FcRn de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo es un anticuerpo de longitud completa, opcionalmente, en donde el anticuerpo de longitud completa se selecciona del grupo que consiste en una IgG1, IgG4 e IgG4P.
7. Un anticuerpo anti-FcRn de acuerdo con la reivindicación 6, que tiene una cadena pesada que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 72 o SEQ ID NO: 87 o SEQ ID NO: 43 y una cadena ligera que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 22.
8. Un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a FcRn del mismo de acuerdo con la reivindicación 1, en donde el anticuerpo o fragmento de unión a FcRn del mismo es un Fab-dsFv que tiene una cadena pesada que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 50 y una cadena ligera que comprende la secuencia dada en la SEQ ID NO: 46 o SEQ ID NO: 78.
9. Un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a FcRn del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 8, que inhibe la unión de IgG humana a FcRn humano.
10. Un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a FcRn del mismo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 9, que no se une a β 2 microglobulina.
11. Una secuencia de ADN aislada que codifica la(s) cadena(s) pesada y ligera de un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10.
12. Un vector de clonación o de expresión que comprende una o más secuencias de ADN de acuerdo con la reivindicación 11.
13. Un vector de acuerdo con la reivindicación 12, en donde el vector comprende (i) la secuencia dada en la SEQ ID NO: 37 y la secuencia dada en la SEQ ID NO: 23 o (ii) la secuencia dada en la SEQ ID NO: 80 y la secuencia dada en la SEQ ID NO: 79 o (iii) la secuencia dada en la SEQ ID NO: 93 y la secuencia dada en la SEQ ID NO: 91.
14. Una célula hospedadora para la expresión de un anticuerpo de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 que comprende:
 - i) una secuencia de ADN que codifica la cadena pesada de dicho anticuerpo, y
 - ii) una secuencia de ADN que codifica la cadena ligera de dicho anticuerpo
- en donde las secuencias de ADN se proporcionan en uno o más vectores de clonación o de expresión.
15. Una célula hospedadora de acuerdo con la reivindicación 14 que comprende uno o más vectores de clonación o de expresión de acuerdo con la reivindicación 13.
16. Una composición farmacéutica que comprende un anticuerpo anti-FcRn o fragmento de unión a FcRn del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 en combinación con uno o más de un excipiente, diluyente o vehículo farmacéuticamente aceptable.
17. Una composición farmacéutica de acuerdo con la reivindicación 16, que comprende adicionalmente otros principios activos.

18. Un anticuerpo o fragmento de unión a FcRn del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o una composición como se define en la reivindicación 16 o 17 para su uso en terapia.

5 19. Un anticuerpo o fragmento de unión a FcRn del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o una composición como se define en la reivindicación 16 o 17, para su uso en el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria, tal como miastenia grave, pénfigo vulgar, neuromielitis óptica, síndrome de Guillain-Barre, lupus y púrpura trombocitopénica trombótica.

10 20. Un anticuerpo o fragmento de unión a FcRn del mismo como se define en una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 o una composición como se define en la reivindicación 16 o 17, para su uso en el tratamiento de CIDP, polineuropatía para-proteinémica, epilepsia refractaria, ITP/TTP, anemia hemolítica, síndrome de Goodpasture, desapareamiento ABO, nefritis por lupus, vasculitis renal, esclerodermia, alveolitis fibrosante, miocardiopatía dilatada, enfermedad de Grave, diabetes de tipo 1, diabetes autoinmunitaria, Pénfigo, vasculitis asociadas con anticuerpos ANCA, dermatomiositis, enfermedad de Sjogren y artritis reumatoide.

15

FIGURA 1

Secuencias del Ac CA170_1519

CDRH1

GFTFSNYGMV SEQ ID NO: 1

CDRH2

YIDSDGDNTYYRDSVKG SEQ ID NO: 2

CDRH3

GIVRPFLY SEQ ID NO: 3

CDRL1

KSSQSLVGASGKTYLY SEQ ID NO: 4

CDRL2

LVSTLDS SEQ ID NO: 5

CDRL3

LQGTHFPHT SEQ ID NO: 6

Región VL del Ac 1519 de Rata SEQ ID NO: 7

DVVMQTQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQMSGQSPK
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP
HTFGAGTKLE LK

Región VL del Ac 1519 de Rata SEQ ID NO: 8

gatgttgtga tgaccagac tccactgtct ttgtcggttg cccttgga
accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagt
gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag
cgactaatct atctggtgtc cacactggac tctggaattc ctgatagggt
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaagggtac acattttcct
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ttgaaa

Región VL del Ac 1519 de Rata con secuencia señal subrayada y en cursiva SEQ ID NO: 9

MMSPAQFLFL *LMLWIQGTSG* DVVMQTQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV
GASGKTYLYW LFQMSGQSPK RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI
RRVEADDLGV YYCLQGTHFP HTFGAGTKLE LK

FIGURA 1A

Región VL del Ac 1519 de Rata con secuencia señal subrayada y en cursiva SEQ ID NO: 10

atgatgagtc ctgcccagtt cctgtttctg ctgatgctct ggattcaggg
aaccagtgg gatgttgga tgaccagac tccactgtct ttgtcgggtg
cccttgga accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta
ggtgctagt gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca
gtctccaaag cgactaatct atctgggtgc cacactggac tctggaattc
ctgatagggt cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc
cgcagagtgg aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag
acattttcct cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ttgaaa

Región VH del Ac 1519 de Rata SEQ ID NO: 11

EVPLVESGGG SVQPGRSMKL SCVVS GF TFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY
IDSDGDN TYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMSLRS ED TATYYCTTG I
VRPFLYWQ G TTVTVS

Región VH del Ac 1519 de Rata SEQ ID NO: 12

gaggtgccgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctggggaggtc
catgaaactc tctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca
tggctctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat
attgattctg atggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt
gtccggccct ttctctattg gggccaagga accacggtca ccgtctcg

Región VH del Ac 1519 de Rata con secuencia señal subrayada y en cursiva SEQ ID NO: 13

MDISLSLAFL VLFIKVRCE VPLVESGGGS VQPGRSMKLS CVVSGFTFSN
YGMVWVRQAP KKGLEWVAYI DSDGDN TYYR DSVKGRFTIS RNNAKSTLYL
QMSLRS EDT ATYYCTTGIV RPFLYWQGT TTVTVS

Región VH del Ac 1519 de Rata con secuencia señal subrayada y en cursiva SEQ ID NO: 14

atggacatca gtctcagctt ggctttcctt gtccttttca taaaagggtg
ccggtgtgag gtgccgctgg tggagctctgg gggcggtca gtgcagcctg
ggaggtccat gaaactctcc tgtgtagtct caggattcac tttcagtaat
tatggcatgg tctgggtccg ccaggctcca aagaagggtc tggagtgggt
cgcatatatt gattctgatg gtgataatac ttactaccga gattccgtga
agggccgatt cactatctcc agaaataatg caaaaagcac cctatatattg
caaatggaca gtctgaggtc tgaggacacg gccacttatt actgtacaac
agggattgtc cggccctttc tctattgggg ccaaggaacc acggtcaccg
tctcg

FIGURA 1B

Región V de 1519 gL20 SEQ ID NO: 15

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK
RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP
HTFGQGTKLE IK

Región V de 1519 gL20 (expresión en *E.coli*) SEQ ID NO: 16

gatatccaga tgaccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga
tcgtgtgact attacctgta aaagctccca gtccctggtg ggtgcaagcg
gcaaaaccta cctgtactgg ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa
cgctgatct atctggtgtc taccctggat agcgggtattc cgtctcgttt
ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt agctccctcc
agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg
cacactttcg gccagggtag caaactggaa atcaaa

Región V de 1519 gL20 (expresión en mamíferos) SEQ ID NO: 17

gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga
tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg
gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa
cggtgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac cgtcacgatt
ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt tcacgcgtgc
aaccgcagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaa

Región V de 1519 gL20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en *E. coli*)

SEQ

ID NO: 18

MKKTAIAIAV ALAGFATVAQ ADIQMTQSPS SLSASVGDRV TITCKSSQSL
VGASGKTYLY WLFQKPGKAP KRLIYLVSTL DSGIPSRFSG SSGSGTEFTLT
ISSLQPEDFA TYYCLQGTHF PHTFGQGTKL EIK

Región V de 1519 gL20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en *E. coli*)

SEQ

ID NO: 19

atgaaaaaga cagctatcgc aattgcagtg gccttggtg gtttcgctac
cgtagcgcaa gctgatatcc agatgacceca gagtccaagc agtctctccg
ccagcgtagg cgatcgtgtg actattacct gtaaaagctc ccagtccttg
gtgggtgcaa ggggcaaaac ctacctgtac tggctcttcc agaaaccggg
caaagctccg aaacgcctga tctatctggt gtctaccctg gatagcggta
ttccgtctcg tttctccggg agcggtagcg gtaccgaatt cacgctgacc
attagctccc tccagccgga ggactttgct acctattact gcctccaggg
cactcatttt ccgcacactt tcggccaggg taccaaactg gaaatcaaa

FIGURA 1C

Región V de 1519 gL20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en mamíferos)

SEQ ID NO: 20

MSVPTQVLGL LLLWLTDARC DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV
GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI
SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP HTFGQGTKLE IK

Región V de 1519 gL20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en mamíferos)

SEQ ID NO: 21

atgtctgtcc ccaccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga
tgccagatgc gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt
ccgttggtga tcgcgtgaca attacgtgta agagctcca atctctcgtg
ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa
ggcaccaaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac
cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt
tcatcgctgc aaccogagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac
tcattttcct cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaa

Cadena ligera de 1519 gL20 (V+ constante) SEQ ID NO: 22

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK
RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP
HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK
VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
VTHQGLSSPV TKSFNRGEC

Cadena ligera de 1519 gL20 (V+ constante, expresión en *E. coli*) SEQ ID NO: 23

gatatccaga tgaccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga
tcgtgtgact attacctgta aaagctcca gtccctggtg ggtgcaagcg
gcaaaaccta cctgtactgg ctctttcaga aaccgggcaa agctccgaaa
cgctgatct atctggtgtc taccctggat agcggtattc cgtctcgttt
ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt agctccctcc
agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttcctg
cacactttcg gccaggggtac caaactggaa atcaaacgta cggtagcggc
cccatctgtc ttcattcttc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa
gtcaccatc agggcctgag ctcaccagta acaaaaagtt ttaatagagg ggagtgt

FIGURA 1D

Cadena ligera de 1519 gL20 (V+ constante, expresión en mamíferos) SEQ ID NO: 24

```

gatataccaga tgaccagag tccaagcagt ctctccgcca gcgtaggcga
tcgtgtgact attacctgta aaagctccca gtccctgggtg ggtgcaagcg
gcaaaaccta cctgtactgg ctcttccaga aaccgggcaa agctccgaaa
cgctgatct atctgggtgtc taccctggat agcgggtattc cgtctcgttt
ctccggtagc ggtagcggta ccgaattcac gctgaccatt agctccctcc
agccggagga ctttgctacc tattactgcc tccagggcac tcattttccg
cacactttcg gccagggtac caaactggaa atcaaacgta cggtagcggc
cccactgtgc ttcactttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa
gtcaccatc agggcctgag ctcgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt

```

Cadena ligera de 1519 gL20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en *E. coli*)

SEQ ID NO: 25

```

MKKTALAIAV ALAGFATVAQ ADIQMTQSPS SLSASVGDRV TITCKSSQSL
VGASGKTYLY WLFQKPGKAP KRLIYLVSTL DSGIPSRFSG SGSGTEFTLT
ISSLPEDFA TYYCLQGTHF PHTFGQGTKL EIKRTVAAPS VFIFPPSDEQ
LKSGTASVVC LLNNFYPREA KVQWKVDNAL QSGNSQESVT EQDSKDSTYS
LSSTLTLSKA DYEKHKVYAC EVTHQGLSSP VTKSFNRGEC

```

Cadena ligera de 1519 gL20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en *E. coli*)

SEQ ID NO: 26

```

atgaaaaaga cagctatcgc aattgcagtg gccttggctg gtttcgctac
cgtagcgcaa gctgatatcc agatgacca gagtccaagc agtctctccg
ccagcgtagg cgatcgtgtg actattacct gtaaaagctc ccagtccctg
gtgggtgcaa gcggcaaaac ctacctgtac tggctcttcc agaaaccggg
caaagctccg aaacgcctga tctatctgggt gtctaccctg gatagcggta
ttcgtctcgc tttctccgggt agcggtagcg gtaccgaatt cacgctgacc
attagctccc tccagccgga ggactttgct acctattact gcctccaggg
cactcatttt ccgcacactt tcggccagggt taccaaactg gaaatcaaac
gtacggtagc ggccccatct gtcttcatct tcccgccatc tgatgagcag
ttgaaatctg gaactgcctc tgttgtgtgc ctgctgaata acttctatcc
cagagaggcc aaagtacagt ggaaggtgga taacgccctc caatcgggta
actcccagga gagtgtcaca gagcaggaca gcaaggacag cacctacagc
ctcagcagca ccctgacgct gagcaaagca gactacgaga aacacaaagt
ctacgcctgc gaagtcaccc atcagggcct gagctcacca gtaacaaaaa
gttttaatat aggggagtg

```

FIGURA 1E

Cadena ligera de 1519 gL20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en mamíferos)
SEQ ID NO: 27

MSVPTQVLGL LLLWLTDARC DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV
GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI
SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL
KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDYSL
SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNREGC

Cadena ligera de 1519 gL20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en mamíferos)
SEQ ID NO: 28

atgtctgtcc ccacccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga
tgccagatgc gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt
ccgttggtga tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg
ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa
ggcaccacaaa cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac
cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt
tcatcgctgc aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac
tcattttccct cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta
cggtagcggc cccatctgtc ttcattcttc cgccatctga tgagcagttg
aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag
agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctcaa tcgggtaact
cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc
agcagcacc tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta
cgcttgcgaa gtcacccatc agggcctgag ctgcgccgctc acaaagagct
tcaacagggg agagtgt

Región V de 1519 gH20 SEQ ID NO: 29

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI
VRPFLYWGQG TLVTVS

Región V de 1519 gH20 (expresión en *E. coli*) SEQ ID NO: 30

gaggttccgc tggtcgagtc tggaggcggg cttgtccagc ctggagggag
cctgcgtctc tcttgtgcag tatctggctt cacgttctcc aactacggta
tgggtgtgggt tcgtcaggct ccaggtaaag gtctggaatg ggtggcgtat
attgactccg acggcgacaa cacctactat cgcgactctg tgaaaggctc
cttcaccatt tcccgcgata acgccaaatc cagcctgtac ctgcagatga
acagcctgcg tgctgaagat actgcggtgt actattgcac cactggcatc
gtgcgtccgt ttctgtattg gggtcagggg accctcgtta ctgtctcg

FIGURA 1F (secuencias señal subrayadas y en cursiva)

Región V de 1519 gH20 (expresión en mamíferos) SEQ ID NO: 31

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tggctctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttgggta ctgtctcg

Región V de 1519 gH20 (expresión en *E. coli*) SEQ ID NO: 32

MKKTAAIAIAV ALAGFATVAQ AEVPLVESGG GLVQPGGSLR LSCAVSGFTF
SNYGMVWVRQ APGKGLEWVA YIDSDGNTY YRDSVKGRFT ISRDNAKSSL
YLQMNSLRAE DTA VYYCTTG IVRPFLYWQ GTLTVTS

Región V de 1519 gH20 (expresión en *E. coli*) SEQ ID NO: 33

atgaagaaga ctgctatagc aattgcagtg gcgctagctg gtttcgccac
cgtggcgcaa gctgaggttc cgctggtcga gtctggaggc gggcttgctc
agcctggagg gagcctgcgt ctctcttggt cagtatctgg cttcacgttc
tccaactacg gtatggtgtg ggttcgtcag gctccaggta aaggtctgga
atgggtggcg tatattgact ccgacggcga caacacctac tatcgcgact
ctgtgaaagg tcgcttcacc atttcccgcg ataacgcaa atccagcctg
tacctgcaga tgaacagcct gcgtgctgaa gatactgcgg tgtactattg
caccactggc atcgtgcgtc cgtttctgta ttggggtcag ggtaccctcg
ttactgtctc g

Región V de 1519 gH20 (expresión en mamíferos) SEQ ID NO: 34

MEWSWVFLFF LSVTGVHSE VPLVESGGGL VQPGGSLRLS CAVSGFTFSN
YGMVWVRQAP GKGLEWVAYI DSDGNTYYR DSVKGRFTIS RDNAKSSLYL
QMNSLRAEDT AVYYCTTGIV RPFLYWQGT LVTVS

Región V de 1519 gH20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en mamíferos)

SEQ ID NO: 35

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt
ccattctgag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
ggcctatatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
gggaatcggt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttgggttactg tctcg

FIGURA 1G

Cadena pesada de Fab' de 1519gH20 (V+ CH1 de gamma 1 humana + bisagra) SEQ ID NO: 36

```
EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI
VRPFLYWGGG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF
PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTQTYIC
NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKHTHTCAA
```

Cadena pesada de Fab' de 1519gH20 (V+ CH1 de gamma 1 humana + bisagra, expresión en *E. coli*) SEQ ID NO: 37

```
gagggtccgc tggctcgagtc tggaggcggg cttgtccagc ctggagggag
cctgcgtctc tcttgtgcag tatctggctt cacgttctcc aactacggta
tgggtgtgggt tcgtcaggct ccaggtaaag gtctggaatg ggtggcgtat
attgactccg acggcgacaa cacctactat cgcgactctg tgaaaggctc
cttcaccatt tcccgcgata acgcaaaatc cagcctgtac ctgcagatga
acagcctgcg tgctgaagat actgcggtgt actattgcac cactggcatc
gtgcgtccgt ttctgtattg gggtcagggt accctcgta ctgtctcgag
cgcttctaca aagggcccat cggctcttccc cctggcaccc tcctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc
ccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggtgttc tacagtcctc aggactctac tcctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttgagcc
caaatcttgt gacaaaactc acacatgcgc cgcg
```

Cadena pesada de Fab' de 1519gH20 (V+ CH1 de gamma 1 humana + bisagra, expresión en mamíferos) SEQ ID NO: 38

```
gaggtagcac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tgggtctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccagata acgcaagag ctactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgcggtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag
cgcttctaca aagggcccat cggctcttccc cctggcaccc tcctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc
ccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggtgttc tacagtcctc aggactctac tcctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttgagcc
caaatcttgt gacaaaactc acacatgcgc cgcg
```

FIGURA 1H

Cadena pesada de Fab' de 1519 gH20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en *E. coli*) SEQ ID NO: 39

MKKTAIAI~~AV~~ ALAGFATVAQ AEVPLVESGG GLVQPGGSLR LSCAVSGFTF
 SNYGMVWVRQ APGKGLEWVA YIDSDGDNTY YRDSVKGRFT ISRDNAKSSL
 YLQMNSLRAE DTAVYYCTTG IVRPFLYWQO GTLVTVSSAS TKGPSVFPLA
 PSSKSTSGGT AALGCLVKDY FPEPVTVSWN SGALTSGVHT FPAVLQSSGL
 YSLSSVVTVP SSSLGTQTYI CNVNHKPSNT KVDKKVEPKS CDKHTTCAA

Cadena pesada de Fab' de 1519 gH20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en *E. coli*) SEQ ID NO: 40

atgaagaaga ctgctatagc aattgcagtg gcgctagctg gtttcgccac
 cgtggcgcaa gctgaggttc cgctggtcga gtctggaggc gggcttgctc
 agcctggagg gagcctgcgt ctctcttggt cagtatctgg cttcacgttc
 tccaactacg gtatggtgtg ggttcgctcag gctccaggta aaggtctgga
 atgggtggcg tatattgact ccgacggcga caacacctac tatcgcgact
 ctgtgaaagg tcgcttcacc atttcccgcg ataacgcaa atccagcctg
 tacctgcaga tgaacagcct gcgtgctgaa gatactgcgg tgtactattg
 caccactggc atcgtgcgtc cgtttctgta ttgggggtcag ggtaccctcg
 ttactgtctc gagcgcttct acaaagggcc catcggtctt cccctggca
 ccctcctcca agagcacctc tgggggcaca gcggccctgg gctgcctggg
 caaggactac ttccccgaac cggtgacggg gtcgtggaac tcaggcgccc
 tgaccagcgg cgtgcacacc ttcccggctg tcctacagtc ctcaggactc
 tactccctca gcagcgtggg gaccgtgcc tccagcagct tgggcacca
 gacctacatc tgcaacgtga atcacaagcc cagcaacacc aaggtcgaca
 agaaagttga gcccaaattc tgtgacaaaa ctcacacatg cgccgcg

Cadena pesada de Fab' de 1519 gH20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en mamíferos) SEQ ID NO: 41

MEWSWVFLFF LSVTTGVHSE VPLVESGGGL VQPGGSLRLS CAVSGFTFSN
 YGMVWVRQAP GKGLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RDNAKSSLYL
 QMNSLRAEDT AVYYCTTGIV RPFLYWQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS
 SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS
 LSSVVTVPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCD KHTTCAA

FIGURA 11

Cadena pesada de Fab' de 1519 gH20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en mamíferos) SEQ ID NO: 42

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt
ccattctgag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggctctt gtgcagcctg
 gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat
 tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
 ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
 aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
 cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
 gggaaatcgtt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttgggtactg
 tctcgagcgc ttctacaaag ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc
 tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tgggtcaagga
 ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctgtg gaactcaggc gccctgacca
 gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
 ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta
 catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtc gacaagaaag
 ttgagcccaa atcttgtgac aaaactcaca catgcgccgc g

Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V+ constante de gamma 4P humana) SEQ ID NO: 43

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY
 IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI
 VRPFLYWQGG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF
 PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVVTVPS SSLGTKTYTC
 NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPPCPAPE FLGGPSVFLF PPKPKDTLMI
 SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV
 SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP
 SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS
 FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK

FIGURA 1J

Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V + constante de gamma 4P humana, exones subrayados)

SEQ ID

NO: 44

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tggctctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccagagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag
cgcttctaca aagggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga
gcacctccga gagcacagcc gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgcctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggtgtcc tacagtcttc aggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttggtga
gaggccagca cagggaggga ggggtgtctgc tggaagccag gctcagccct
cctgcctgga cgcaccccgg ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc
atgccccatc tgtctctca cccggaggcc tctgaccacc cactcatgc
ccagggagag ggtcttctgg atttttccac caggctccgg gcagccacag
gctggatgcc cctaccccag gccctgcgca tacaggggca ggtgctgogc
tcagacctgc caagagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaaagc
ccaccccaaa ggccaaactc tccactccct cagctcagac accttctctc
ctcccagatc tgagtaactc ccaatcttct ctctgcagag tccaaatatg
gtcccccattg cccaccatgc ccaggtaagc caaccaggc ctgcctctcc
agctcaaggc gggacagggt ccctagagta gcctgcatcc agggacaggc
cccagccggg tgctgacgca tccacctcca tctcttcttc agcacctgag
ttcctggggg gaccatcagt ctctctgttc cccccaaaac ccaaggacac
tctcatgac tcccggaccc ctgaggtcac gtgcgtggtg gtggacgtga
gccaggaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag
gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta
ccgtgtgggtc agcgtctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca
aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag
aaaaccatct ccaaagccaa aggtgggacc cacgggggtgc gagggccaca
tggacagagg tcagctcggc ccacctctg ccctgggagt gaccgctgtg
ccaacctctg tccctacagg gcagccccga gagccacagg tgtacacct
gcccccatcc caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc
tgggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat
gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tggactccga
cggctccttc ttctctaca gcaggctaac cgtggacaag agcagggtggc
aggaggggaa tgtcttctca tgctccgtga tgcattgaggc tctgcacaac
cactacacac agaagagcct ctccctgtct ctgggtaaa

FIGURA 1K

Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V+ constante de gamma 4P humana) con secuencia señal subrayada y en cursiva SEQ ID NO: 45

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt
ccattctgag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
gggaatcggt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg
tctcgagcgc ttctacaaag ggcccatccg tcttccccct ggcgccctgc
tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tggtaagga
ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctgtg gaactcaggc gccctgacca
gcggcggtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cgaagacct
cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaaggtg gacaagagag
ttgggtgagag gccagcacag ggagggaggg tgtctgtctg aagccaggct
cagccctcct gcctggacgc accccggctg tgcagccca gccagggca
gcaaggcatg ccccatctgt ctctcaccg ggaggcctct gaccaccca
ctcatgcca gggagagggt cttctggatt ttccaccag gctccgggca
gccacaggct ggatgccct accccaggcc ctgcgcatac aggggcaggt
gctgcgtca gacctgcaa gagccatata cgggaggacc ctgccctga
cctaagcca cccaaaggc caaactctcc actccctcag ctcagacacc
ttctctcttc ccagatctga gtaactcca atcttctctc tgcagagtcc
aaatatggtc ccccatgccc accatgcca ggtaagcca cccaggcctc
gccctccagc tcaaggcggg acagggtgcc tagagtagcc tgcattcagg
gacaggcccc agccgggtgc tgacgcattc acctccattt cttctcagc
acctgagttc ctggggggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaacca
aggacactct catgatctcc cggaccctg aggtcacgtg cgtgggtgtg
gacgtgagcc aggaagacc cgagggtccag ttcaactggt acgtggatgg
cgtggagggt cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagttcaaca
gcacgtaccg tgtgggtcagc gtctcaccg tcttgacca ggactggctg
aacggcaagg agtacaagtg caaggctctc aacaaaggcc tccgtctctc
catcgagaaa accatctcca aagccaaagg tgggaccac ggggtgcgag
ggccacatgg acagaggtca gctcggccca cctctgccc tgggagtga
cgtgtgcca acctctgtcc ctacagggca gcccagagag ccacagggtg
acacctgccc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg
acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga
gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg
actccgacgg ctcttcttc ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc
aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct
gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg ggtaaa

FIGURA 1L

Cadena ligera de FabFv de 1519gL20 SEQ ID NO: 46

```

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK
RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP
HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK
VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
VTHQGLSSPV TKSFNREGES GGGGSGGGGS GGGGSDIQMT QSPSSVSASV
GDRVTITCQS SPSVWSNFLS WYQQKPGKAP KLLIYEASKL TSGVPSRFSG
SGSGTDFTLT ISSLQPEDFA TYICGGGYSS ISDTTFGCGT KVEIKRT

```

Cadena ligera de FabFv de 1519gL20 SEQ ID NO: 47

```

gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga
tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg
gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa
cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac cgtcacgatt
ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt tcatcgctgc
aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttcctt
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc
cccatctgtc ttcactcttc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact ccagagagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctg agcagcaccc
tgacgctgtc taaagcagac tacgagaaac acaaagtgtg cgctgcgaa
gtcacccatc agggcctgag ctcaccagta acaaaaagtt ttaatatagg
ggagtgtagc ggtggcgggtg gcagtgggtg gggaggctcc ggagggtggcg
gttcagacat acaaatgacc cagagtcctt catcggtatc cgcgtccgtt
ggcgataggg tgactattac atgtcaaagc tctcctagcg tctggagcaa
ttttctatcc tggatcaac agaaaccggg gaaggctcca aaacttctga
tttatgaagc ctcgaaactc accagtggag ttccgtcaag attcagtggc
tctggatcag ggacagactt caggttgaca atcagttcgc tgcaaccaga
ggactttgcg acctactatt gtggtggagg ttacagtagc ataagtgata
cgacatttgg gtgcggtact aagggtgaaa tcaaacgtac c

```

Cadena ligera de FabFv de 1519gL20 con secuencia señal subrayada y en cursiva SEQ ID NO: 48

```

MSVPTQVLGL LLLWLTDARC DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV
GASGKTYLYW LFQKPGKAPK RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI
SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL
KSGTASVVCL LNNFYPREAK VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL
SSTLTLSKAD YEKHKVYACE VTHQGLSSPV TKSFNREGES GGGGSGGGGS
GGGGSDIQMT QSPSSVSASV GDRVTITCQS SPSVWSNFLS WYQQKPGKAP
KLLIYEASKL TSGVPSRFSG SGSGTDFTLT ISSLQPEDFA TYICGGGYSS
ISDTTFGCGT KVEIKRT

```

FIGURA 1M

Cadena ligera de FabFv de 1519gL20 con secuencia señal subrayada y en cursiva

SEQ ID NO:

49

atgtctgtcc ccacccaagt cctcggactc ctgctactct ggcttacaga
tgccagatgc gatatccaga tgaccagag cccatctagc ttatccgctt
 ccgttggtga tcgctgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg
 ggtgcaagtg gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa
 ggcacaaaaa cggctgatct atctgggtgc taccottgac tctgggatac
 cgtcacgatt ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt
 tcatcgtcgc aacccgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac
 tcattttccct cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta
 cggtagcggc cccatctgtc ttcattcttc cgccatctga tgagcagttg
 aaatctggaa ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag
 agaggccaaa gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact
 cccaggagag tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctg
 agcagcaccc tgacgtcgtc taaagcagac tacgagaaac acaaagtgtg
 cgcttgcgaa gtcacccatc agggcctgag ctcaccagta aaaaaagtt
 ttaatagagg ggagtgtagc ggtggcggtg gcagtgggtg gggaggctcc
 ggaggtggcg gttcagacat acaaatgacc cagagtcctt catcggatatc
 cgcgtccggtt ggcgataggg tgactattac atgtcaaagc tctcctagcg
 tctggagcaa ttttctatcc tggatatcaac agaaaccggg gaaggctcca
 aaactttctga tttatgaagc ctcgaaactc accagtggag ttccgtcaag
 attcagtggc tctggatcag ggacagactt cacgttgaca atcagttcgc
 tgcaaccaga ggactttgcg acctactatt gtgggtggagg ttacagttagc
 ataagtgata cgacatttgg gtgcggtact aaggtggaaa tcaaacgtac
 c

Cadena pesada de FabFv de 1519gH20

SEQ ID NO: 50

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY
 IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI
 VRPFLYWQQG TLVTVSSAST KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF
 PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGTQTYIC
 NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC SGGGSGGGG TGGGGSEVQL LESGGGLVQP
 GGSRLSCAV SGIDLSNYAI NWVRQAPGKC LEWIGIIWAS GTTFYATWAK
 GRFTISRDNS KNTVYLQMNS LRAEDTAVYY CARTVPGYST APYFDLWQQG TLVTVSS

FIGURA 1N

Cadena pesada de FabFv de 1519gH20 SEQ ID NO: 51

```

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggcctt caccttctcc aattacggaa
tggtctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccgagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag
cgcgctccaca aaggggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc
cccgaaccag tgacgggtgtc gtggaactca ggtgccctga ccagcggcgt
tcacaccttc ccggctgtcc tacagtcttc aggactctac tccctgagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgataaga aagttgagcc
caaatcttgt agtggaggtg ggggctcagg tggaggcggg accggtggag
gtggcagcga ggttcaactg cttgagtctg gaggaggcct agtccagcct
ggaggggagc tgctgtcttc ttgtgcagta agcggcatcg acctgagcaa
ttacgccatc aactgggtga gacaagctcc ggggaagtgt ttagaatgga
tcggtataat atgggccagt gggacgacct tttatgctac atgggcgaaa
ggaaggttta caattagccg ggacaatagc aaaaacaccg tgtatctcca
aatgaactcc ttgcgagcag aggacacggc ggtgtactat tgtgctcgca
ctgtcccagc ttatagcact gcaccctact tcgatctgtg gggacaaggg
accctggtga ctgtttcaag t

```

Cadena pesada de FabFv de 1519gH20 con secuencia señal subrayada y en cursiva

SEQ ID NO:

52

```

MEWSWVFLFF LSVTTGVHSE VPLVESGGGL VQPGGSLRLS CAVSGFTFSN
YGMVWVRQAP GKGLEWVAYI DSDGDNTYYR DSVKGRFTIS RDNAKSSLYL
QMNSLRAEDT AVYYCTTGIV RPFLYWQGT LVTVSSASTK GPSVFPLAPS
SKSTSGGTAA LGCLVKDYFP EPVTVSWNSG ALTSGVHTFP AVLQSSGLYS
LSSVTVTPSS SLGTQTYICN VNHKPSNTKV DKKVEPKSCS GGGGSGGGGT
GGGGSEVQLL ESGGGLVQPG GSLRLSCAVS GIDLSNYAIN WVRQAPGKCL
EWIGIIWASG TTFYATWAKG RFTISRDN SK NTVYLQMNSL RAEDTAVYYC
ARTVPGYSTA PYFDLWGQGT LVTVSS

```

FIGURA 1P

Cadena pesada de FabFv de 1519gH20 con secuencia señal subrayada y en cursiva SEQ ID NO: 53

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt
ccattctgag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
ggcctatatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
gggaatcgtt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg
tctcgagcgc gtccacaaag ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc
tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tggtaagga
ctacttcccc gaaccagtga cgggtgtcgtg gaactcaggt gccctgacca
gcggcgttca caccttcccg gctgtcctac agtcttcagg actctactcc
ctgagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgaggc cccagaccta
catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggtc gataagaaag
ttgagcccaa atcttgtagt ggaggtgggg gctcaggtgg aggcgggacc
ggtggaggtg gcagcgaggt tcaactgctt gagtctggag gaggcctagt
ccagcctgga gggagcctgc gtctctcttg tgcagtaagc ggcacgcacc
tgagcaatta cgccatcaac tgggtgagac aagctccggg gaagtgttta
gaatggatcg gtataatatg ggccagtggg acgacctttt atgctacatg
ggcgaaagga aggtttacaa ttagccggga caatagcaaa aacaccgtgt
atctccaaat gaactccttg cgagcagagg acacggcggt gtactattgt
gctcgactg tcccaggtta tagcactgca ccctacttcg atctgtgggg
acaagggacc ctggtgactg tttcaagt

Marco aceptor de VK1 2-1-(1) A30 JK2 humana SEQ ID NO: 54

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCRASQGIR NDLGWYQQKP GKAPKRLIYA
ASSLQSGVPS RFSGSGSGTE FTLTISSLQP EDFATYYCLQ HNSYPYTFGQ GTKLEIK

Marco aceptor de VK1 2-1-(1) A30 JK2 humana SEQ ID NO: 55

gacatccaga tgaccagtc tccatcctcc ctgtctgcat ctgtaggaga
cagagtcacc atcacttgcc gggcaagtca gggcattaga aatgatttag
gctggtatca gcagaaacca gggaaagccc ctaagcgctt gatctatgct
gcatccagtt tgcaaagtgg ggtcccatca aggttcagcg gcagtggatc
tgggacagaa ttactctca caatcagcag cctgcagcct gaagattttg
caacttatta ctgtctacag cataatagtt acccttacac ttttggccag
gggaccaagc tggagatcaa a

FIGURA 1Q

Marco aceptor de VH3 1-3 3-07 JH4 humana SEQ ID NO: 56

EVQLVESGGG LVQPGGSLRL SCAASGFTFS SYWMSWVRQA PGKGLEWVAN
IKQDGSEKYY VDSVKGRFTI SRDNAKNSLY LQMNSLRAED TAVYYCARYF
DYWGQGTLVT VS

Marco aceptor de VH3 1-3 3-07 JH4 humana SEQ ID NO: 57

gaggtgcagc tgggtggagtc tgggggaggc ttggtccagc ctgggggggtc
cctgagactc tctgtgcag cctctggatt cacctttagt agctattgga
tgagctgggt ccgccaggct ccagggaagg ggctggagtg ggtggccaac
ataaagcaag atggaagtga gaaatactat gtggactctg tgaagggccg
attcaccatc tccagagaca acgccaagaa ctactgtat ctgcaaata
acagcctgag agccgaggac acggctgtgt attactgtgc gagatacttt
gactactggg gccagggaac cctggtcacc gtctcc

Región VL del Ac 1548 de Rata SEQ ID NO: 58

DVVMTQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQMSGQSPK
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP
HTFGAGTKLE IK

Región VL del Ac 1548 de Rata SEQ ID NO: 59

gatgttgtga tgaccagac tccactgtct ttgtcgggtg cccttgagaca
accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagt
gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag
cgactaatct atctggtgtc cacactggac tctggaattc ctgatagggt
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ataaaa

Región VH del Ac 1548 de Rata SEQ ID NO: 60

EVPLVESGGG SVQPGRSMKL SCVVSGFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY
IDSDGDNTRY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI
VRPFLYWGQG VMVTVS

FIGURA 1R

Región VH del Ac 1548 de Rata SEQ ID NO: 61

```
gaggtgccgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc
catgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca
tgggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatac
attgattctg atgggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt
gtccggccct ttctctattg gggccaagga gtcattggtca cagtctcg
```

Región VL del Ac 1644 de Rata SEQ ID NO: 62

```
DVMTQTPLS LSVAIGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQRSGQSPK
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP
HTFGAGTKLE LK
```

Región VL del Ac 1644 de Rata SEQ ID NO: 63

```
gatgttgtga tgaccagac tccactgtct ttgtcggttg ccattggaca
accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagt
gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag
cgactaatct atctgggtgtc cactctggac tctggaattc ctgatagggt
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg
aagccgatga tttgggaggt tattactgct tgcaaggtac acattttcct
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ctgaaa
```

Región VH del Ac 1644 de Rata SEQ ID NO: 64

```
EVPLVESGGG SVQPGRSTKL SCVVS GF TFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY
IGSDGDNIYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI
VRPFLYWGGG TTVTVS
```

Región VH del Ac 1644 de Rata SEQ ID NO: 65

```
gaggtgccgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc
cacgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aactatggca
tgggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatac
attggttctg atgggtgataa tatttactac cgagattccg tgaagggctg
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt
gtccggccct ttctctactg gggccaagga accacggtca ccgtctcg
```

Figura 1S

Región VK del Ac 1496 de Rata SEQ ID NO: 66

DVVMQTPLS LSVALGQPAS ISCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQRSGQSPK
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQGTHFP
HTFGAGTKLE LK

Región VK del Ac 1496 de Rata SEQ ID NO: 67

gatgttgatga tgaccacagac tccactgtct ttgtcgggtg cccttggaca
accagcctcc atctcttgca agtcaagtca gagcctcgta ggtgctagtg
gaaagacata tttgtattgg ttatttcaga ggtccggcca gtctccaaag
cgactaatct atctggtgtc cacactggac tctggaattc ctgataggtt
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct
cacacgtttg gagctgggac caagctggaa ctgaaa

Región VH del Ac 1496 de Rata SEQ ID NO: 68

EVLLVESGGG SVQPGRSMKL SCVVSGFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY
IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI
VRPFLYWGGG TMVTVS

Región VH del Ac 1496 de Rata SEQ ID NO: 69

gaggtgctgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc
catgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aattatggca
tgggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat
attgattctg atggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt
gtccggccct ttctctattg gggccaagga accatggtca ccgtctcg

Cadena pesada de IgG1 de 1519gH20 (V + constante de gamma 1 humana) SEQ ID NO: 72

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY IDSDGDNTYY
RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI VRPFLYWGGG TLVTVSSAST
KGPSVFPLAP SSKSTSGGTA ALGCLVKDYF PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY
SLSSVTVPS SSLGTQTYIC NVNHKPSNTK VDKKVEPKSC DKTHTCPPCP APELLGGPSV
FLFPPKPKDT LMISRTPEVT CVVVDVSHED PEVKFNWYVD GVEVHNAKTK PREEQYNSTY
RVVSVLTVLH QDWLNGKEYK CKVSNKALPA PIEKTISKAK GQPREPQVYT LPPSRDELTK
NQVSLTCLVK GFYPSDIAVE WESNGQPENN YKTTTPVLDS DGSFFLYSKL TVDKSRWQQG
NVFSCSVME ALHNHYTQKS LSLSPGK

Figura 1T

Cadena pesada de IgG1 de 1519gH20 (V+ constante de gamma 1 humana, exones subrayados) SEQ ID NO: 73

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tgggtctgggt cagacaagca
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccagagata acgccaagag ctcaactgtac
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttgggta ctgtctcgag cgcttctaca
aagggcccat cggtcttccc cctggcaccc tcctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
gccctgggct gcctgtgcaa ggactacttc ccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc ccggtgttcc tacagtcctc aggactctac
tcctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcaccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtcgacaaga aagttggtga gaggccagca
cagggagggg ggggtgtctg tggaagccag gctcagcgt cctgcctgga cgcattccgg
ctatgcagcc ccagtccagg gcagcaaggc agggcccgtc tgcctcttca cccggaggcc
tctgcccgcc ccaactcatg tcagggagag ggtcttcttg ctttttcccc aggctctggg
caggcacagg ctagggtgcc ctaaccagg ccctgcacac aaaggggag gtgctgggct
cagacctgcc aagagccata tccgggagga ccctgcccct gacctagcc caccctaaag
gccaaactct ccaactccctc agctcggaca ccttctctcc tcccagatct gagtaactcc
caatcttctc tctgcagagc ccaaactctg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc
aggtaagcca gcccaggcct cgccctccag ctcaaggcgg gacaggtgcc cttagagtagc
ctgcatccag ggacaggccc cagccgggtg ctgacacgtc cacctccatc tcttctcag
cacctgaact cctgggggga ccgtcagttc tcctcttccc cccaaaaccc aaggacaccc
tcatgatctc ccggaccctt gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc
ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggacg gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc
cgcgggagga gcagtacaac agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtctgcacc
aggactggct gaatggcaag gactacaagt gcaagggtct caacaaagcc ctcccagccc
ccatcgagaa aacctctctc aaagccaaag gtgggacccg tgggggtgca gggccacatg
gacagaggcc ggctcggccc acctctgcc ctgagagtga ccgtgtacc aacctctgtc
cctacagggc agccccgaga accacagggtg tacaccctgc cccatcccgg ggatgagctg
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag acaactaca agaccagcc tcccgtgctg
gactccgacg gctccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa

FIGURA 1U

Cadena pesada de IgG1 de 1519gH20 (V+ constante de gamma 1 humana) con secuencia señal subrayada y en cursiva SEQ ID NO: 74

atggaatgga gctgggtcctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtcctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct
ggaaagggtc ttgaatgggt ggcctatatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggataact gccgtgtact attgcacaac gggaatcgtt
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag
ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc
ctgggctgcc tgggtcaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgcgtg gaactcaggc
gccctgacca ggggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta catctgcaac
gtgaatcaca agcccagcaa caccaaggct gacaagaaag ttggtgagag gccagcacag
ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagcgtcctt gcttggacgc atcccggcta
tgcagcccca gtccaggga gcaaggcagg ccccgctctgc ctcttcaccc ggaggcctct
gcccgcacca ctcatgctca gggagaggggt cttctggctt tttccccagg ctctgggcag
gcacaggcta ggtgcccta acccaggccc tgcacacaaa ggggcagggtg ctgggctcag
acctgccaag agccatatcc gggaggaccc tgcccctgac ctaagcccac cccaaaggcc
aaactctcca ctccctcagc tcggacacct tctctcctcc cagatctgag taactcccaa
tcttctctct gcagagccca aatcttgtga caaaactcac acatgcccac cgtgcccagg
taagccagcc caggcctcgc cctccagctc aaggcgggac aggtgcccta gtagtagcctg
catccaggga caggccccag ccgggtgctg acacgtccac ctccatctct tctcagcac
ctgaactcct ggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacaccctca
tgatctcccg gacccctgag gtcacatgcg tgggtggtgga cgtgagccac gaagaccctg
aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggaggtgca taatgccaag acaaagccgc
gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctcaccgtc ctgcaccagg
actggctgaa tggcaaggag tacaagtgca aggtctccaa caaagccctc ccagccccca
tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggtg ggaccggtgg ggtgcgaggg ccacatggac
agaggccggc tcggcccacc ctctgccttg agagtgaccg ctgtaccaac ctctgtccct
acagggcagc cccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg
gagtgggaga gcaatgggca gccggagAAC aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac
tccgacggct ccttcttccct ctacagcaag ctaccgtgg acaagagcag gtggcagcag
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggctctgc acaaccacta cagcagaag
agcctctccc tgtctccggtaaa

FIGURA 1V

Cadena ligera de 1519gL20 (V+ constante, expresión alternativa en mamíferos) SEQ ID NO: 75

```

gatatccaga tgacccagag cccatctagc ttatccgctt ccgttggtga
tcgcgtgaca attacgtgta agagctccca atctctcgtg ggtgcaagtg
gcaagaccta tctgtactgg ctctttcaga agcctggcaa ggcacaaaaa
cggctgatct atctggtgtc tacccttgac tctgggatac cgtcacgatt
ttccggatct gggagcggaa ctgagttcac actcacgatt tcatcgctgc
aaccocgagga ctttgctacc tactactgcc tgcaaggcac tcatttccct
cacactttcg gccaggggac aaaactcgaa atcaaacgta cggtagcggc
cccatctgtc ttcactttcc cgccatctga tgagcagttg aaatctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtggg aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgctgcgaa
gtcaccatc agggcctgag ctgcccgtc acaaagagct tcaacagggg agagtgt

```

Cadena pesada de Fab' de 1519gH20 (V+ CH1 de gamma 1 humana + bisagra, expresión en mamíferos una base cambiada de la SEQ ID NO: 38) SEQ ID NO: 76

```

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tggtctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccagagata acgccaagag ctcaactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcagag
cgcttctaca aagggcccat cggctctccc cctggcacc cctccaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggtgtctc tacagtctc aggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc
caaatcttgt gacaaaactc acacatgcgc cgcg

```

Cadena pesada de Fab' de 1519gH20 con secuencia señal subrayada y en cursiva (expresión en mamíferos una base cambiada de la SEQ ID NO: 42) SEQ ID NO: 77

```

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt
ccattctgag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
gggaatcggt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg
tctcgagcgc ttctacaaaag ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc
tccaagagca cctctggggg cacagcggcc ctgggctgcc tgggtcaagga
ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctgt gaactcaggc gccctgacca
gcggcgtgca caccttcccg gctgtcctac agtctcagg actctactcc
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cccagaccta
catctgcaac gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggt gacaagaaag
ttgagcccaa atcttgtgac aaaactcaca catgcgccgc g

```

Figura 1W

Cadena ligera de FabFv de 1519gL20 (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 46) SEQ ID NO: 78

```

DIQMTQSPSS LSASVGDRVT ITCKSSQSLV GASGKTYLYW LFQKPGKAPK
RLIYLVSTLD SGIPSRFSGS GSGTEFTLTI SSLQPEDFAT YYCLQGTHFP
HTFGQGTKLE IKRTVAAPSV FIFPPSDEQL KSGTASVVCL LNNFYPREAK
VQWKVDNALQ SGNSQESVTE QDSKDSTYSL SSTLTLSKAD YEKHKVYACE
VTHQGLSSPV TKSFNREGCG GGGSGGGGSG GGGSDIQMTQ SPSSVSASVG
DRVTITCQSS PSVWSNFLSW YQQKPGKAPK LLIYEASKLT SGVPSRFSGS
GSGTDFTLTI SSLQPEDFAT YYCGGGYSSI SDTTFGCGTK VEIKRT

```

Cadena ligera de FabFv de 1519gL20 (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 47) SEQ ID NO: 79

```

gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcca
cagagtgacc atcacatgca agtcctccca gtccctggtc ggagcctccg
gcaagaccta cctgtactgg ctgttccaga agcccggcaa ggcccccaag
cggctgatct acctggtgtc taccctggac tccggcatcc cctcccgggt
ctccggctct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc tccagcctgc
agcccagagg ctctgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaagcgga ccgtagcggc
cccattctgtc ttcattcttc cgccattctga tgagcagttg aaattctggaa
ctgcctctgt tgtgtgcctg ctgaataact tctatcccag agaggccaaa
gtacagtgga aggtggataa cgccctccaa tcgggtaact cccaggagag
tgtcacagag caggacagca aggacagcac ctacagcctc agcagcacc
tgacgctgag caaagcagac tacgagaaac acaaagtcta cgcctgcgaa
gtcacccatc agggcctgag ctgcgccgtc acaaagagct tcaacagggg
agagtgtggt ggaggtggct ctggcggtgg tggctccgga ggcggaggaa
gcgacatcca gatgaccag agcccttcct ctgtaagcgc cagtgtcgga
gacagagtga ctattacctg ccaaagctcc ccttcagtct ggtccaattt
tctatcctgg tatcagcaaa agcccggaaa ggctcctaaa ttgctgatct
acgaagcaag caaactcacc agcggcgtgc ccagcaggtt cagcggcagt
gggtctggaa ctgactttac cctgacaatc tcctcactcc agcccagga
cttcgccacc tattactgcg gtggagggtta cagtagcata agtgatacga
catttggatg cggcactaaa gtggaaatca agcgtacc

```

FIGURA 1X

Cadena pesada de FabFv de 1519gH20 (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 51) SEQ ID NO: 80

```

gaggtgcccc tgggtggaatc tggcgggcgga ctggtgcagc ctggcggctc
cctgagactg tcttgccgccc tgtccggctt caccttctcc aactacggca
tggctctgggt ccgacaggct cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac
atcgactccg acggcgacaa cacctactac cgggactccg tgaagggccg
gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac ctgcagatga
actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctgggtc cegtgtcttc
tgcttctaca aagggcccat cggctctccc cctggcacc tccctcaaga
gcacctctgg gggcacagcg gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacgggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggtctgtc tacagtcttc tggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttgagcc
caaatcttgt tccggagggt gcggttccgg aggtggcggg acaggtggcg
gtgggtccga agtccagctg cttgaatccg gaggcggact cgtgcagccc
ggaggcagtc ttcgcttgtc ctgcgctgta tctggaatcg acctgagcaa
ttacgccatc aactgggtga gacaggcacc tgggaaatgc ctogaatgga
tcggcattat atgggctagt gggacgacct tttatgctac atgggcgaag
ggtagattca caatctcacg ggataatagt aagaacacag tgtacctgca
gatgaactcc ctgcgagcag aggataccgc cgtttactat tgtgctcgca
ctgtcccagg ttatagcact gcaccctact ttgatctgtg ggggcagggc
actctggtca ccgtctcgtc c

```

Figura 1Y (secuencias señal subrayadas y en cursiva)

Región VL del Ac 1548 de Rata (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 58) SEQ ID NO: 81

DVVMTQTPLS LSV[~]AI[~]GPAS ISSKSSQSLV GAGGKTYLYW LLQ[~]RS[~]GQSPK
RLIYLVSTLD SGIPDRFSGS GAETDFTLKI RRVEADDLGV YYCLQ[~]GTHFP
HTFGAGTNLE IK

Región VL del Ac 1548 de Rata (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 59) SEQ ID NO: 82

gatgttgtga tgacccagac tccactgtct ttgtcggttg ccattggaca
accagcctcc atctcttcta agtcaagtca gagcctcgta ggtgctggtg
gaaagacata tttgtattgg ttattacaga ggtccggcca gtctccaaag
cgactaatct atctggtgtc cactctggac tctggaattc ctgatagggt
cagtggcagt ggagcagaga cagattttac tcttaaaatc cgcagagtgg
aagccgatga tttgggagtt tattactgct tgcaaggtag acattttcct
cacacgtttg gagctgggac caacctggaa ataaaa

Región VH del Ac 1548 de Rata (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 60) SEQ ID NO: 83

EVPLVESGGG SVQ[~]PGRSMKL SCVVSGFTFS NYGMVWVRQA PKKGLEWVAY
IGSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRNNAKSTLY LQMDSLRSED TATYYCTTGI
VRPFLYWGGG VMVTVS

Región VH del Ac 1548 de Rata (secuencia alternativa a SEQ ID NO: 61) SEQ ID NO: 84

gaggtgccgc tgggtggagtc tggggggcggc tcagtgcagc ctgggaggtc
catgaaactc tcctgtgtag tctcaggatt cactttcagt aactatggca
tgggtctgggt ccgccaggct ccaaagaagg gtctggagtg ggtcgcatat
attggttctg atggtgataa tacttactac cgagattccg tgaagggccg
attcactatc tccagaaata atgcaaaaag caccctatat ttgcaaatgg
acagtctgag gtctgaggac acggccactt attactgtac aacagggatt
gtccggccct ttctctactg gggccaagga gtcattggtca cagtctcg

Figura 1Z

Cadena pesada de IgG1 de 1519gH20 (V + constante de gamma 1 humana, exones subrayados una base cambiada de la SEQ ID NO: 71) SEQ ID NO: 85

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag tttacgtctc
tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa tggctctgggt cagacaagca
cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat attgactctg acggggacaa cacctactat
cgggattccg tgaaaggacg cttcacaatc tcccagagata acgccaagag ctactgtac
ctgcagatga atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttggtta ctgtctcgag cgcttctaca
aaggggcccat cggctcttccc cctggcaccc tctccaaga gcacctctgg gggcacagcg
gccctgggct gcctggtcaa ggactacttc cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca
ggcgccctga ccagcggcgt gcacaccttc cgggctgtcc tacagtcttc aggactctac
tccctcagca gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacccagac ctacatctgc
aacgtgaatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga aagttggtga gaggccagca
caggagagga ggggtgtctg tggagccag gctcagcgt cctgcctgga cgcattccgg
ctatgcagcc ccagtcagc gcagcaaggc agggcccgtc tgcctcttca cccggaggcc
tctgcccgcc cactcatgc tcaggagag ggtcttctgg ctttttcccc aggtctctggg
caggcacagg ctagggtgcc ctaaccagc ccctgcacac aaaggggcag gtgctgggt
cagacctgcc aagagccata tccgggagga ccctgccctt gacctaaccc caccctaaag
gccaaactct cactccctc agctcggaca cttctcttcc tcccagatct gagtaactcc
caatcttctc tctgcagagc ccaaattctg tgacaaaact cacacatgcc caccgtgccc
aggtaagcca gccaggcct cgccctccag ctcaaggcgg gacaggtgcc ctagagtagc
ctgcatccag ggacaggccc cagccgggtg ctgacacgtc cacctccatc tcttctcag
cacctgaact cctgggggga ccgtcagttc tcttcttccc cccaaaaccc aaggacaccc
tcatgatctc cgggacccct gaggtcacat gcgtgggtgt ggacgtgagc cacgaagacc
ctgaggtcaa gttcaactgg tacgtggagc gcgtggaggt gcataatgcc aagacaaagc
cgcgaggaga gcagtacaac agcacgtacc gtgtgggtcag cgtcctcacc gtcctgcacc
aggactgggt gaatggcaag gagtacaagt gcaaggcttc caacaaagcc ctcccagccc
ccatcgagaa aaccatctcc aaagccaaag gtgggacccg tggggtgcga gggccacatg
gacagaggcc ggctcggccc accctctgcc ctgagagtga ccgtgtacc aacctctgtc
cctacagggc agccccgaga accacagggtg tacaccctgc ccccatcccg ggatgagctg
accaagaacc aggtcagcct gacctgcctg gtcaaaggct tctatcccag cgacatcgcc
gtggagtggg agagcaatgg gcagccggag aacaactaca agaccacgcc tcccgtgctg
gactccgacg gtccttctt cctctacagc aagctcaccg tggacaagag caggtggcag
caggggaacg tcttctcatg ctccgtgatg catgaggctc tgcacaacca ctacacgcag
aagagcctct ccctgtctcc gggtaaa

Figura 1AA

Cadena pesada de IgG1 de 1519gH20 (V + constante de gamma 1 humana) con secuencia señal subrayada y en cursiva (una base cambiada de la SEQ ID NO: 72) SEQ ID NO: 86

atggaatgga gctgggtctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt ccattctgag
gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtctt gtgcagcctg gaggaagttt acgtctctct
tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct
ggaaaggggc ttgaatgggt ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg
gattccgtga aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac gggaatcggt
aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg tctcgagcgc ttctacaaag
ggcccatcgg tcttccccct ggcaccctcc tccaagagca cctctggggg cacagcggcc
ctgggctgcc tggtaagga ctacttcccc gaaccggtga cgggtgctg gaactcaggc
gccctgacca gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
ctcagcagcg tggtgaccgt gccctccagc agcttgggca ccagaccta catctgcaac
gtgaatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagaaag ttggtgagag gccagcacag
ggagggaggg tgtctgctgg aagccaggct cagcgtcctt gcctggacgc atcccggcta
tgcagcccca gtccaggga gcaaggcagg ccccgctgc ctcttcaccc ggaggcctct
gcccgcacca ctcatgctca gggagagggt cttctggctt tttccccagg ctctgggcag
gcacaggcta ggtgcccta acccaggccc tgcacacaaa ggggcagggt ctgggctcag
acctgccaag agccatatcc gggaggaccc tgcccctgac ctaagccac ccaaaggcc
aaactctcca ctcccctcagc tcggacacct tctctcctcc cagatctgag taactcccaa
tcttctctct gcagagccca aatcttgtga caaaactcac acatgccac cgtgcccagg
taagccagcc caggcctgc cctccagctc aaggcgggac aggtgcccta gagtagcctg
catccaggga caggccccag cgggtgctg acacgtccac ctccatctct tctcagcac
ctgaactcct ggggggaccg tcagtcttcc tcttcccccc aaaacccaag gacacctca
tgatctcccg gaccctgag gtcacatgcg tggtggtgga cgtgagccac gaagacctg
aggtcaagtt caactggtac gtggacggcg tggagggtgca taatgccaag acaaagccgc
gggaggagca gtacaacagc acgtaccgtg tggtcagcgt cctaccgtc ctgcaccagg
actggctgaa tggcaaggag tacaagtga aggtctccaa caaagccctc ccagcccca
tcgagaaaac catctccaaa gccaaagggtg ggaccctgg ggtgcgagg ccacatggac
agaggccggc tcggcccacc ctctgccctg agagtgaccg ctgtaccaac ctctgtccct
acagggcagc ccgagaacc acaggtgtac accctgcccc catcccggga tgagctgacc
aagaaccagg tcagcctgac ctgcctggtc aaaggcttct atcccagcga catcgccgtg
gagtgggaga gcaatgggca gccggagaac aactacaaga ccacgcctcc cgtgctggac
tccgacggct ccttcttct ctacagcaag ctcaccgtgg acaagagcag gtggcagcag
gggaacgtct tctcatgctc cgtgatgcat gaggtctctg acaaccacta cacgcagaag
agcctctccc tgtctccgggtaaa

Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V + constante de gamma 4 humana sin mutaciones P) SEQ ID NO: 87

EVPLVESGGG LVQPGGSLRL SCAVSGFTFS NYGMVWVRQA PGKGLEWVAY
 IDSDGDNTYY RDSVKGRFTI SRDNAKSSLY LQMNSLRAED TAVYYCTTGI
 VRPFLYWQG TLTVSSAST KGPSVFPLAP CSRSTSESTA ALGCLVKDYF
 PEPVTVSWNS GALTSGVHTF PAVLQSSGLY SLSSVTVPS SSLGKTITYTC
 NVDHKPSNTK VDKRVESKYG PPCPSCPAPF FLGGPSVFLF PPKPKDTLMI
 SRTPEVTCVV VDVSQEDPEV QFNWYVDGVE VHNAKTKPRE EQFNSTYRVV
 SVLTVLHQDW LNGKEYKCKV SNKGLPSSIE KTISKAKGQP REPQVYTLPP
 SQEEMTKNQV SLTCLVKGFY PSDIAVEWES NGQPENNYKT TPPVLDSDGS
 FFLYSRLTVD KSRWQEGNVF SCSVMHEALH NHYTQKSLSL SLGK

Figura 1BB

Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V + constante de gamma 4 humana, exones subrayados sin mutaciones P) SEQ ID NO: 88

gaggtaccac ttgtggaaag cggaggaggt cttgtgcagc ctggaggaag
tttacgtctc tcttgtgctg tgtctggctt caccttctcc aattacggaa
tggctctgggt cagacaagca cctggaaagg gtcttgaatg ggtggcctat
attgactctg acggggacaa cacctactat cgggattccg tgaaaggacg
cttcacaatc tcccagagata acgccaagag ctactgtac ctgcagatga
atagcctgag agccgaggat actgccgtgt actattgcac aacgggaatc
gttaggcctt ttctgtactg gggacagggc accttgggta ctgtctcgag
cgcttctaca aaggggcccat ccgtcttccc cctggcgccc tgctccagga
gcacctccga gagcacagcc gccctgggct gcctgggtcaa ggactacttc
cccgaaccgg tgacggtgtc gtggaactca ggcgccctga ccagcggcgt
gcacaccttc ccggtgttcc tacagtcttc aggactctac tccctcagca
gcgtggtgac cgtgccctcc agcagcttgg gcacgaagac ctacacctgc
aacgtagatc acaagcccag caacaccaag gtggacaaga gagttggtga
gaggccagca cagggaggga ggggtgtctgc tggaagccag gctcagccct
cctgcctgga cgcaccccgg ctgtgcagcc ccagcccagg gcagcaaggc
atgccccatc tgtctcctca cccgagggcc tctgaccacc cactcatgc
ccagggagag ggtcttcttg atttttccac caggctccgg gcagccacag
gctggatgcc cctaccccag gccctgcgca tacaggggca ggtgctgcgc
tcagacctgc caagagccat atccgggagg accctgcccc tgacctaaagc
ccaccccaaa ggccaaactc tccactccct cagctcagac accttctctc
ctcccagatc tgagtaactc ccaatcttct ctctgcagag tccaaatatg
gtcccccatg cccatcatgc ccaggtaagc caaccaggc ctgcacctcc
agctcaaggc gggacaggtg ccctagagta gcctgcatcc agggacaggc
cccagccggg tgctgacgca tccacctcca tctcttcctc agcacctgag
ttcctggggg gaccatcagt ctctctgttc ccccaaaaac ccaaggacac
tctcatgac tcccggacct ctgaggtcac gtgcgtggtg gtggacgtga
gccaggaaga ccccgaggtc cagttcaact ggtacgtgga tggcgtggag
gtgcataatg ccaagacaaa gccgcgggag gagcagttca acagcacgta
ccgtgtggtc agcgtcctca ccgtcctgca ccaggactgg ctgaacggca
aggagtacaa gtgcaaggtc tccaacaaag gcctcccgtc ctccatcgag
aaaaccatct ccaaagccaa aggtgggacc cacgggggtgc gagggccaca
tggacagagg tcagctcggc ccacctctg ccctgggagt gaccgtgtg
ccaacctctg tccctacagg gcagccccga gagccacagg tgtacacct
gcccccatcc caggaggaga tgaccaagaa ccaggtcagc ctgacctgcc
tgggtcaaagg cttctacccc agcgacatcg ccgtggagtg ggagagcaat
gggcagccgg agaacaacta caagaccacg cctcccgtgc tgactccga
cggctccttc ttctctaca gcaggctaac cgtggacaag agcaggtggc
aggaggggaa tgtcttctca tgctccgtga tgcattgagg tctgcacaac
cactacacac agaagagcct ctccctgtct ctgggtaaa

Figura 1CC

Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V + constante de gamma 4 humana) con secuencia señal subrayada y en cursiva- sin mutaciones P SEQ ID NO: 89

atggaatgga gctgggtcctt tctcttcttc ctgtcagtaa ctacaggagt
ccattctgag gtaccacttg tggaaagcgg aggaggtcct gtgcagcctg
gaggaagttt acgtctctct tgtgctgtgt ctggcttcac cttctccaat
tacggaatgg tctgggtcag acaagcacct ggaaagggtc ttgaatgggt
ggcctatatt gactctgacg gggacaacac ctactatcgg gattccgtga
aaggacgctt cacaatctcc cgagataacg ccaagagctc actgtacctg
cagatgaata gcctgagagc cgaggatact gccgtgtact attgcacaac
gggaatcggt aggccttttc tgtactgggg acagggcacc ttggttactg
tctcgagcgc ttctacaaag ggcccatccg tcttccccct ggcgccttgc
tccaggagca cctccgagag cacagccgcc ctgggctgcc tgggtcaagga
ctacttcccc gaaccgggtga cgggtgctgtg gaactcaggc gccctgacca
gcggcgtgca caccttcccc gctgtcctac agtcctcagg actctactcc
ctcagcagcg tgggtgaccgt gccctccagc agcttgggca cgaagaccta
cacctgcaac gtagatcaca agcccagcaa caccaagggtg gacaagagag
ttgggtgagag gccagcacag ggaggggagg tgtctgctgg aagccaggct
cagccctcct gcctggacgc accccggctg tgcagcccca gcccagggca
gcaaggcatg ccccatctgt ctctcacc ccaggcctct gaccaccca
ctcatgcca gggagaggggt cttctggatt ttccaccag gctccgggca
gccacaggct ggatgcccc accccaggcc ctgcgcatac aggggcagggt
gctgcgctca gacctgcca gagccatac cgggaggacc ctgccctga
cctaagcca ccccaaaggc caaactctcc actccctcag ctacagacc
ttctctctc ccagatctga gtaactcca atcttctctc tgcagagtcc
aaatatggtc ccccatgccc atcatgcca ggtaagcca cccaggcctc
gccctccagc tcaaggcggg acagggtgcc tagagtagcc tgcattccagg
gacaggcccc agccgggtgc tgacgcattc acctccattc ctctctcagc
acctgagttc ctggggggac catcagtctt cctgttcccc ccaaaaccca
aggacactct catgatctcc cggacccttg aggtcacgtg cgtggtgggtg
gacgtgagcc aggaagacc cgagggtccag ttcaactgggt acgtggatgg
cgtggagggtg cataatgcca agacaaagcc gcgggaggag cagttcaaca
gcacgtaccg tgtgggtcagc gtctcaccg tcttgacca ggactggctg
aacggcaagg agtacaagtg caaggctctc aacaaaggcc tcccgctctc
catcgagaaa accatctcca aagccaaagg tgggaccac ggggtgcgag
ggccacatgg acagagggtc gctcggccca ccctctgccc tgggagtgc
cgctgtgcca acctctgtcc ctacagggca gccccgagag ccacagggtg
acaccctgcc cccatcccag gaggagatga ccaagaacca ggtcagcctg
acctgcctgg tcaaaggctt ctaccccagc gacatcgccg tggagtggga
gagcaatggg cagccggaga acaactacaa gaccacgcct cccgtgctgg
actccgacgg ctcttcttct ctctacagca ggctaaccgt ggacaagagc
aggtggcagg aggggaatgt cttctcatgc tccgtgatgc atgaggctct
gcacaaccac tacacacaga agagcctctc cctgtctctg ggtaaa

Figura 1DD

Región V de 1519 gL20 (expresión en mamíferos alternativa a la SEQ ID NO: 17) SEQ ID NO: 90

```
gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga
cagagtgacc atcacatgca agtcctccca gtccctggtc ggagcctccg
gcaagaccta cctgtactgg ctgttccaga agcccggcaa ggcccccaag
cggctgatct acctggtgtc taccctggac tccggcatcc cctcccgggtt
ctccggctct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc tccagcctgc
agcccgagga cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaag
```

Cadena ligera de 1519 gL20 (V + constante, expresión en mamíferos alternativa a la SEQ ID NO: 24) SEQ ID NO: 91

```
gacatccaga tgacccagtc cccctccagc ctgtccgcct ccgtgggcga
cagagtgacc atcacatgca agtcctccca gtccctggtc ggagcctccg
gcaagaccta cctgtactgg ctgttccaga agcccggcaa ggcccccaag
cggctgatct acctggtgtc taccctggac tccggcatcc cctcccgggtt
ctccggctct ggctctggca ccgagttcac cctgaccatc tccagcctgc
agcccgagga cttcgccacc tactactgtc tgcaaggcac ccacttcccc
cacaccttcg gccagggcac caagctggaa atcaagcgga ccgtggccgc
tccctccgtg ttcattcttc caccctccga cgagcagctg aagtccggca
ccgcctccgt cgtgtgcctg ctgaacaact tctacccccg cgaggccaag
gtgcagtgga aggtggacaa cgccctgcag tccggcaact cccaggaatc
cgtcaccgag caggactcca aggacagcac ctactccctg tcctccaccc
tgaccctgtc caaggccgac tacgagaagc acaaggtgta cgcctgcgaa
gtgaccacc agggcctgtc cagccccgtg accaagtcct tcaaccgggg
cgagtgc
```

Figura 1EE

Región V de 1519 gH20 (expresión en mamíferos alternativa a la SEQ ID NO: 31) SEQ ID NO: 92

```
gaggtgcccc tgggtggaatc tggcggcgga ctggtgcagc ctggcggctc
cctgagactg tcttgccgccg tgtccggctt caccttctcc aactacggca
tgggtctgggt ccgacaggct cctggcaagg gactggaatg ggtggcctac
atcgactccg acggcgacaa cacctactac cgggactccg tgaagggccg
gttcaccatc tcccgggaca acgccaagtc ctccctgtac ctgcagatga
actccctgcg ggccgaggac accgccgtgt actactgcac caccggcatc
gtgcggccct ttctgtactg gggccagggc accctggtca ccgtgtcc
```

Figura 1FF

Cadena pesada de IgG4 de 1519gH20 (V + constante de gamma 4P humana alternativa
a la SEQ ID NO: 44) SEQ ID NO: 93

```

gaggtgcccc  tgggtggaatc  tggcgggcgga  ctggtgcagc  ctggcggctc
cctgagactg  tcttgcgccg  tgtccggctt  caccttctcc  aactacggca
tgggtctgggt  ccgacaggct  cctggcaagg  gactggaatg  ggtggcctac
atcgactccg  acggcgacaa  cacctactac  cgggactccg  tgaagggccg
gttcaccatc  tcccgggaca  acgccaagtc  ctccctgtac  ctgcagatga
actccctgcg  ggccgaggac  accgccgtgt  actactgcac  caccggcatc
gtgcggccct  ttctgtactg  gggccagggc  accctgggtc  ccgtgtcctc
tgcctccacc  aaggggccct  ccgtgttccc  tctggccctc  tgctcccggc
ccacctccga  gtctaccgcc  gctctgggct  gcctgggtcaa  ggactacttc
cccgagcccg  tgacagtgtc  ctggaactct  ggcgccctga  cctccggcgt
gcacaccttc  cctgccgtgc  tgcagtccct  cggcctgtac  tcctgtcctt
ccgtcgtgac  cgtgccctcc  tccagcctgg  gcaccaagac  ctacacctgt
aacgtggacc  acaagccctc  caacaccaag  gtggacaagc  ggggtggaatc
taagtacggc  cctccctgcc  ccccctgccc  tgcccctgaa  tttctgggcg
gaccttcctg  gttcctgttc  ccccaaaagc  ccaaggacac  cctgatgatc
tcccggaccc  ccgaagtgc  ctgcgtgggt  gtggacgtgt  cccaggaaga
tcccgaggtc  cagttcaatt  ggtacgtgga  cggcgtggaa  gtgcacaatg
ccaagaccaa  gccagagag  gaacagttca  actccacctc  ccgggtggtg
tccgtgctga  ccgtgctgca  ccaggactgg  ctgaacggca  aagagtacaa
gtgcaagggt  tccaacaagg  gcctgccctc  cagcatcgaa  aagaccatct
ccaaggccaa  gggccagccc  cgcgagcccc  aggtgtacac  cctgccccct
agccaggaag  agatgaccaa  gaaccagggt  tcctgacct  gtctggtcaa
gggcttctac  ccctccgaca  ttgccgtgga  atgggagtcc  aacggccagc
ccgagaacaa  ctacaagacc  acccccctg  tgctggacag  cgacggctcc
ttcttcctgt  actctcggct  gaccgtggac  aagtcccggc  ggcaggaagg
caacgtcttc  tcctgctccg  tgatgcacga  ggccctgcac  aaccactaca
cccagaagtc  cctgtccctg  agcctgggca  ag

```

β 2M humana (SEQ ID NO: 95)

```

IQKTPQIQVYSRHPPENGKPNFLNCYVSQFHPPQIEIELLKNGKKIPNIEMSDLSFSKDWSFYILAHTFTPTETDVYA
CRVKHVTLEPKTVTWDRDM

```

FIGURA 2A

CADENA LIGERA Injerto 1519

Ligera de 1519	1	5	10	15	20	25	30	abcde	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100	105
	DVVNTQTPLSLVALGQPASIS	<u>CKSSQSLVGASGKTYLYWLF</u>	QSRGSGPKRLIY	<u>LVSTLDSGIPDRFSGSGAETDFTLKIR</u>	RV	EAD	D	LG	YVC	LOGTHFPHT	FGAGTKLELK												
VK1 2-1-(1) A30	DIQMTQSPSSLSASVGD	RV	IT	TC	<u>RA</u>	<u>SQ</u>	<u>GIRN</u>	----	<u>DLG</u>	<u>WYQQKPGKAPKRLIY</u>	<u>AA</u>	<u>SSLQS</u>	<u>GV</u>	<u>PSR</u>	<u>FSGSGSGTEFTLTIS</u>	<u>SLQPED</u>	<u>FATYYC</u>	<u>LQHNSYPYTFGGQTKLEIK</u>					
1519 gL20	DIQMTQSPSSLSASVGD	RV	IT	TC	<u>KSSQSLVGASGKTYLYWLF</u>	QKPGKAPKRLIY	<u>LVSTLDSGIP</u>	<u>DR</u>	<u>FSGSGSGTEFTLTIS</u>	<u>SLQPED</u>	<u>FATYYC</u>	<u>LOGTHFPHT</u>	FGAGTKLEIK										

Leyenda

- 1519 = Secuencia de cadena ligera variable de rata
- 1519 gL20 = Injerto humanizado de la cadena ligera variable de 1519 utilizando la línea germinal humana VK1 2-1-(1) A30 como el marco aceptor.

Las CDR se muestran en negrita/subrayadas
Los restos de donante se muestran en negrita/cursiva y se resaltan: L36, F37 e I58

FIGURA 3A Fab' de CA170_01519.g57 se une a las células del clon 34 de MDCK II en pH ácido y neutro.

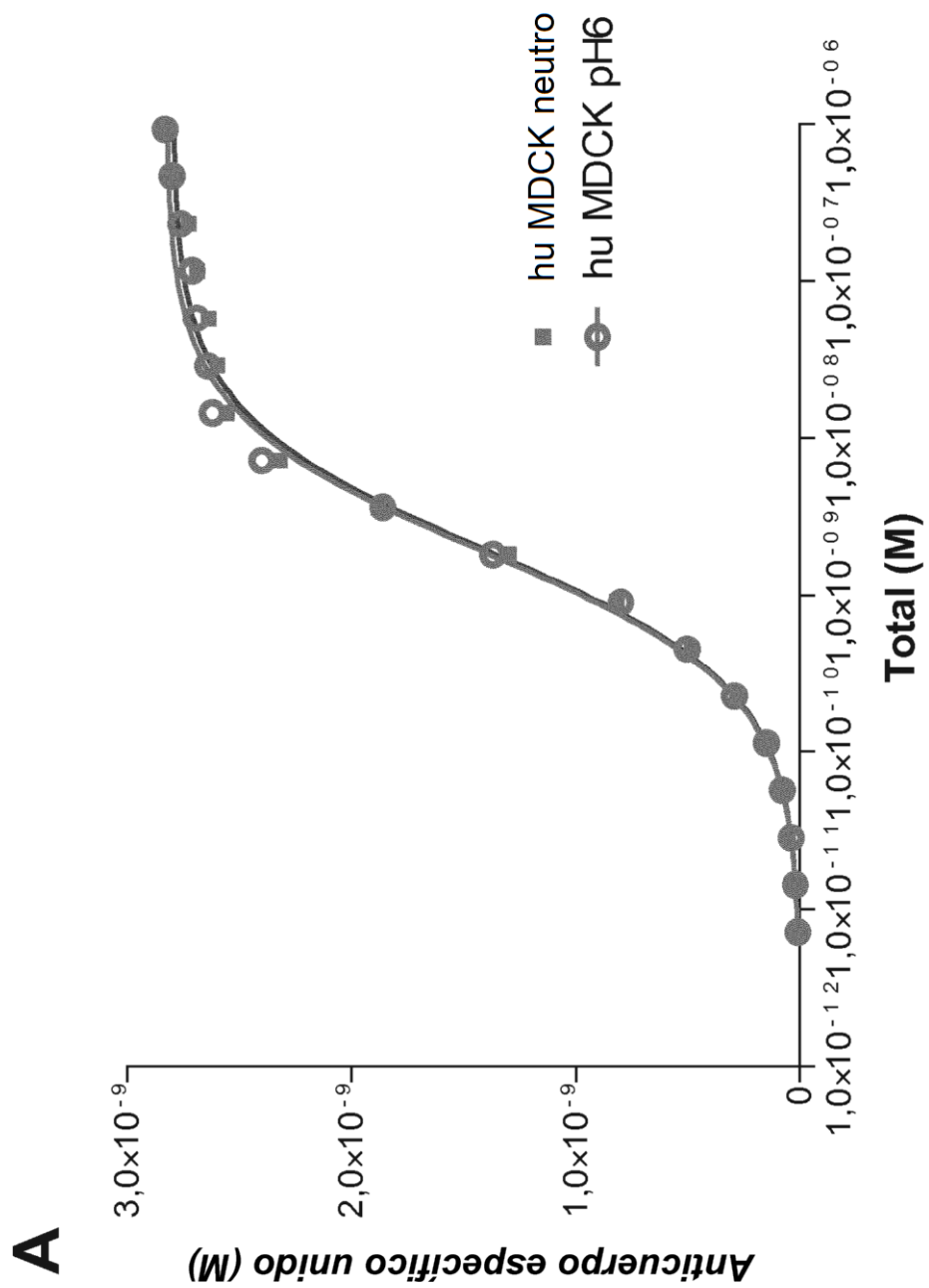


FIGURA 3B Fab'PEG de CA170_01519.g57 se une a las células del clon 34 de MDCK II en pH ácido y neutro.

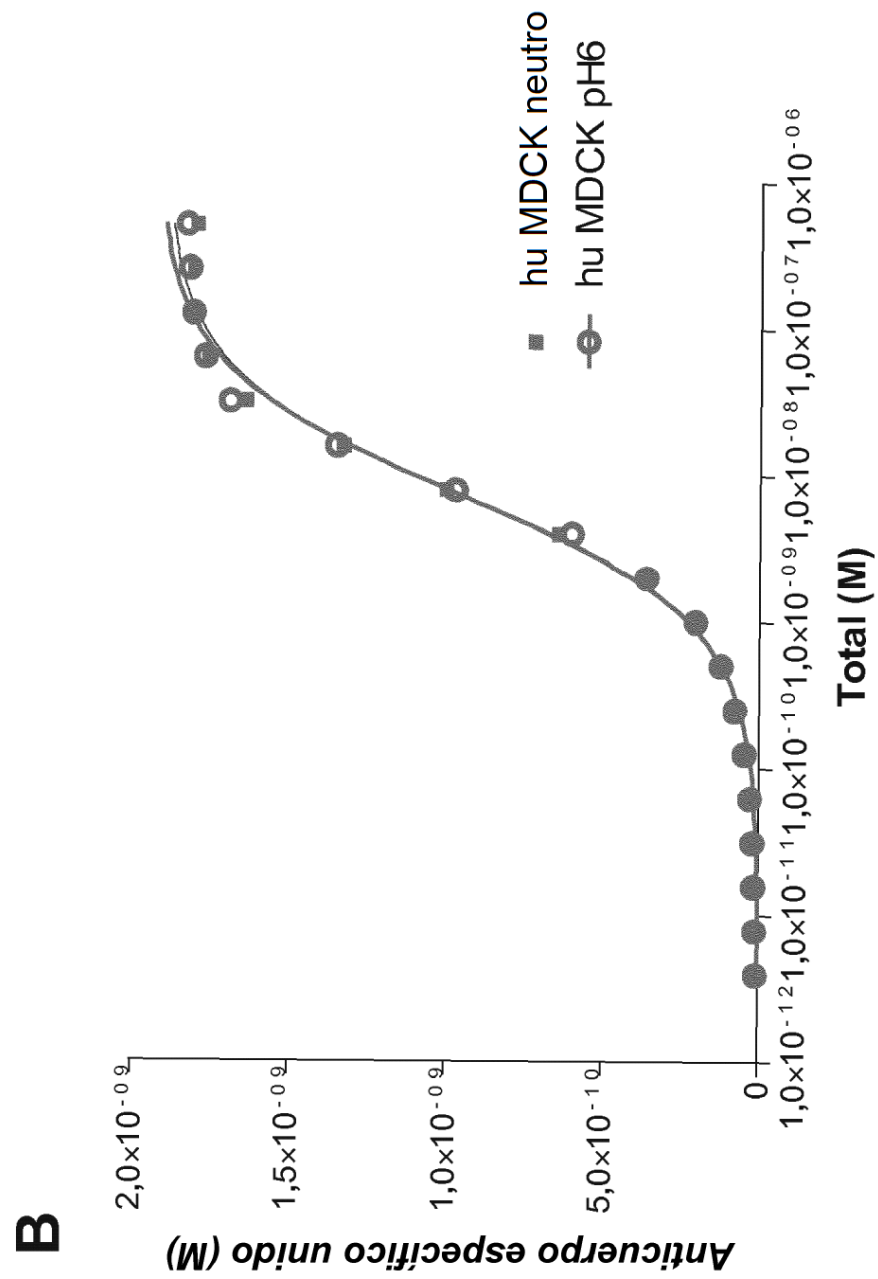
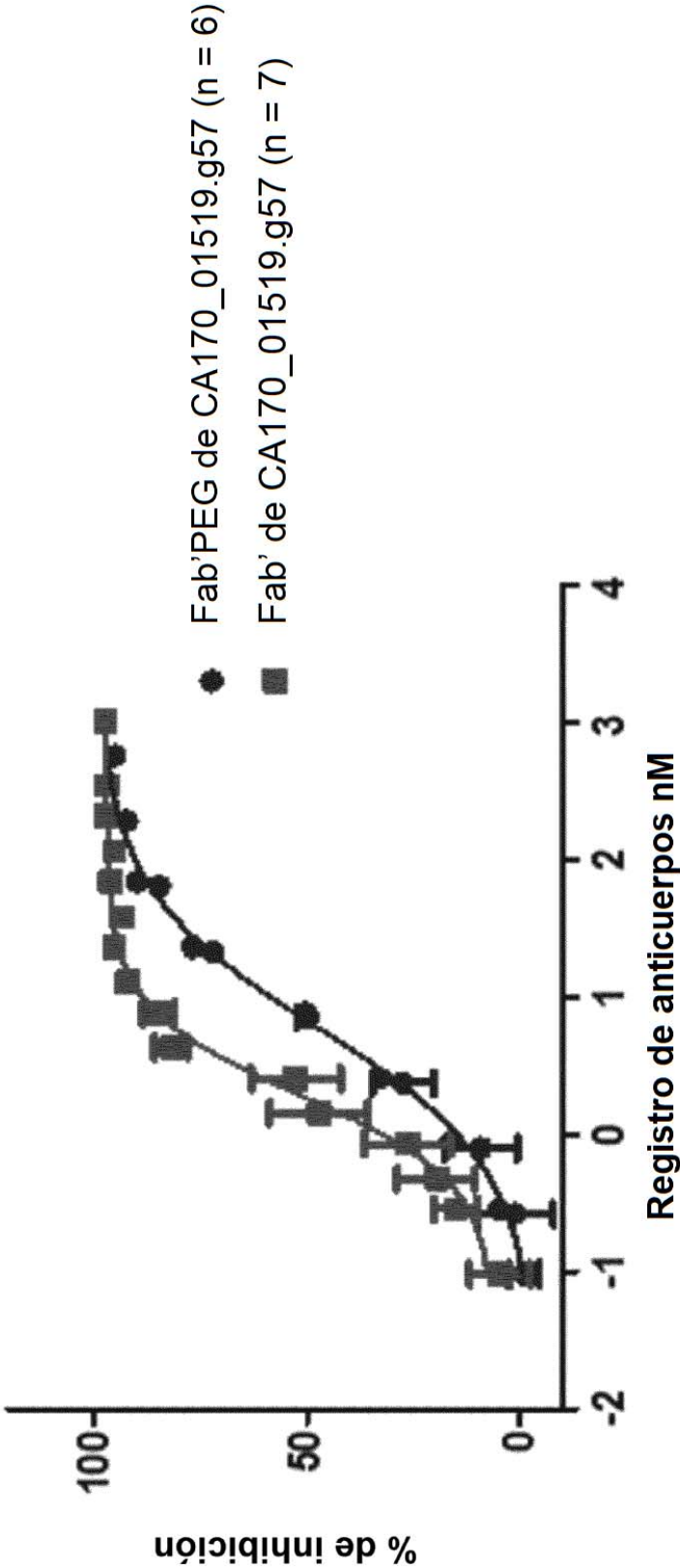


FIGURA 4 CA170_01519.g57 inhibe el reciclado de IgG en células del clon 34 de MDCK II



CE50	Fab'PEG de 1519.g57 (n = 6)	Fab' de 1519.g57 (n = 7)
	6,034	1,937
CI al 95 % (nM)	4,614 a 7,891	1,426 a 2,632

FIGURA 5 Fab'PEG de CA170_01519.g57 inhibe la transcitosis de IgG de apical a basolateral en células del clon 34 de MDCK II

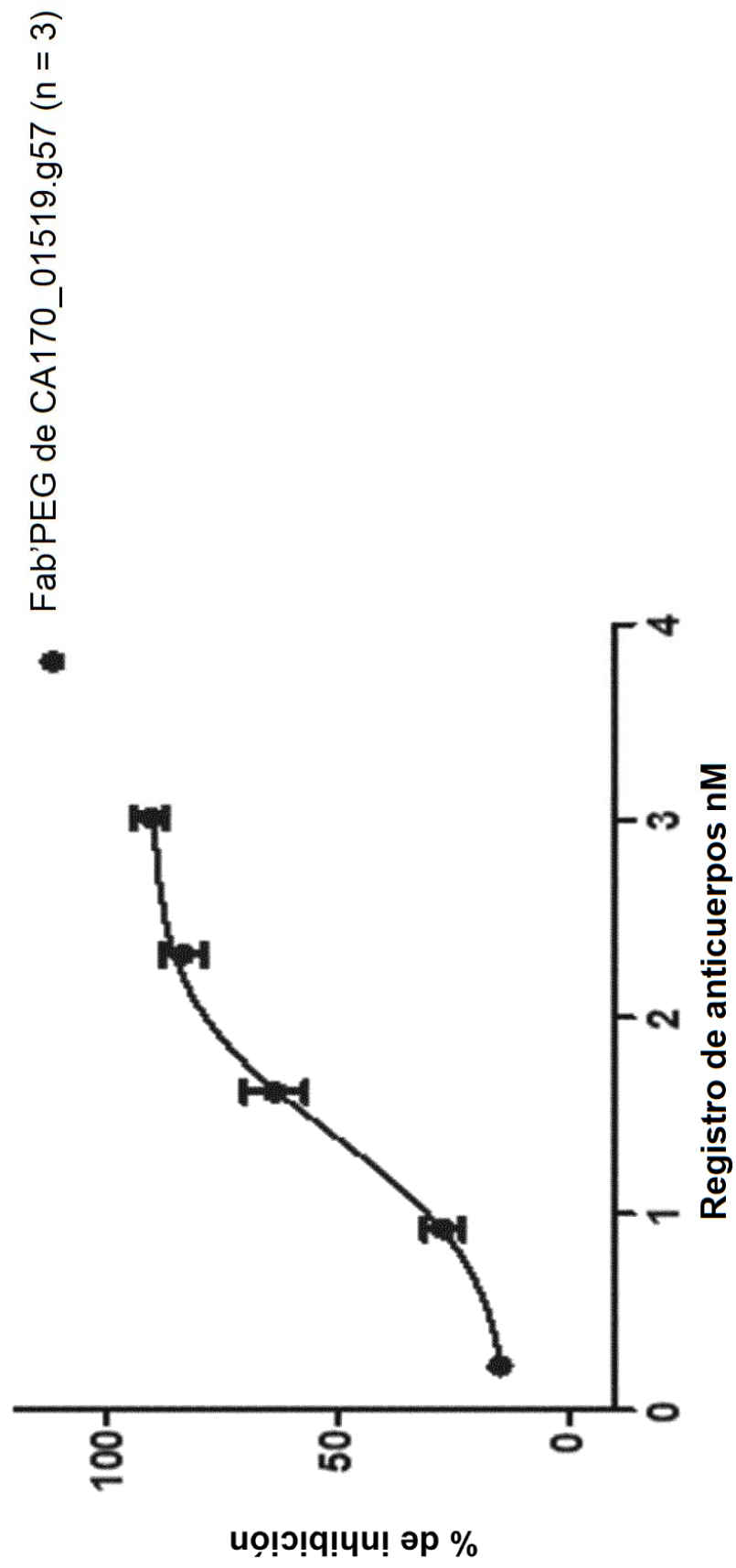


FIGURA 6A Fab' de CA170_01519.g57 se une en células MDCK II (cm) de macaco en pH ácido y neutro

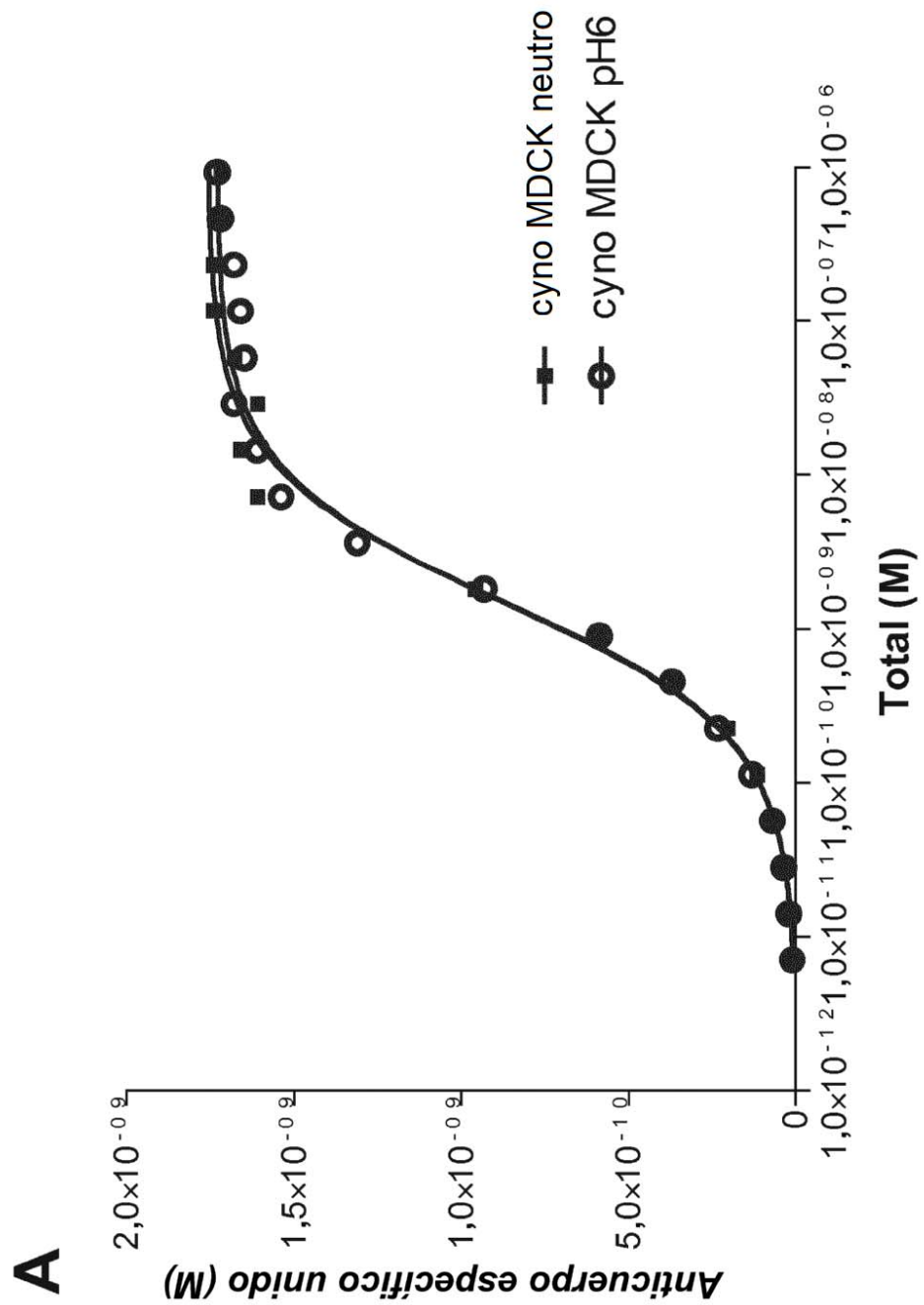


FIGURA 6B Fab'PEG de CA170_01519.g57 se une en células MDCK II (cm) de macaco en pH ácido y neutro

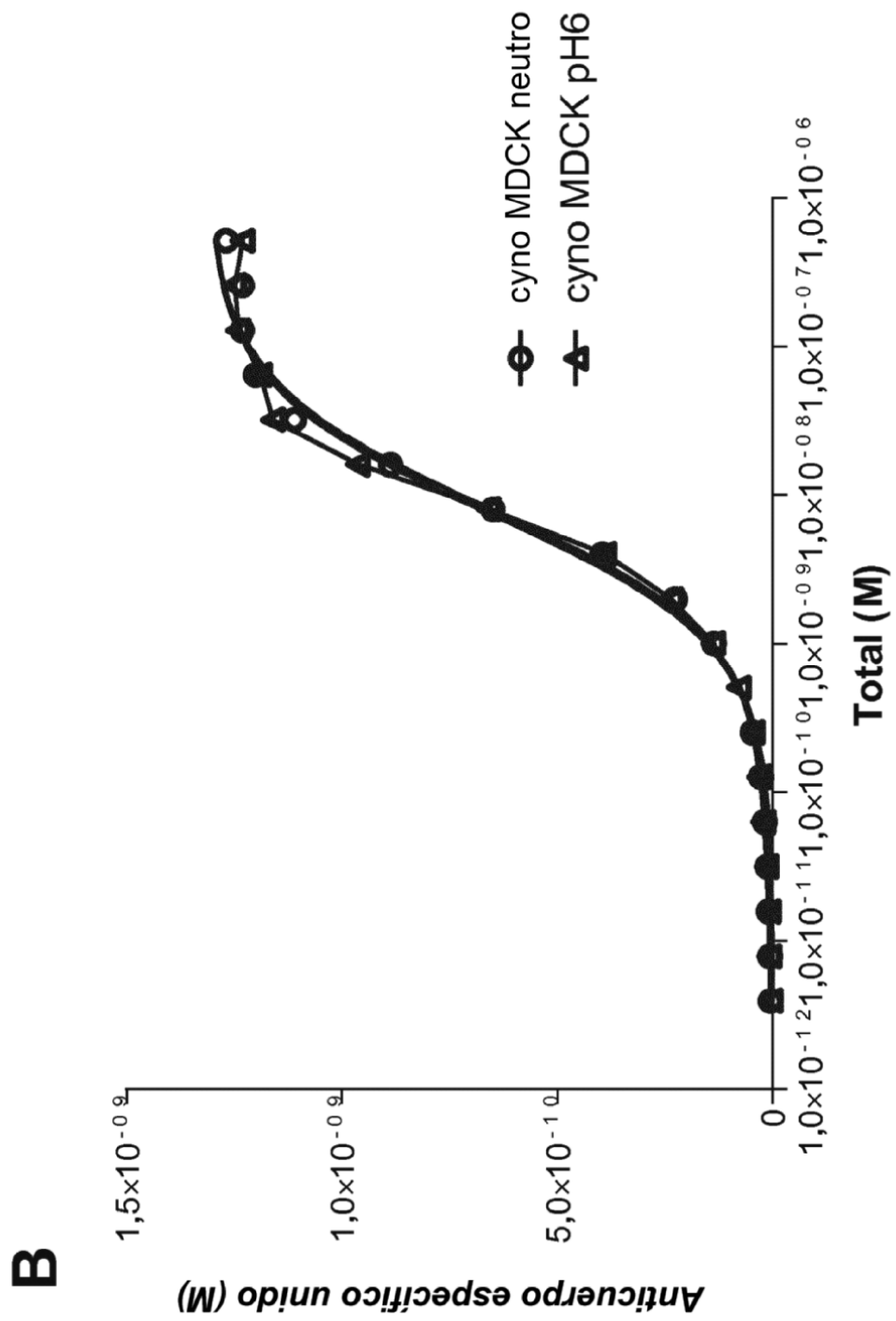


FIGURA 7 CA170_01519.g57 inhibe el reciclado de IgG en células del clon 34 de MDCK II humanas y de macaco y células MDCK II (cm).

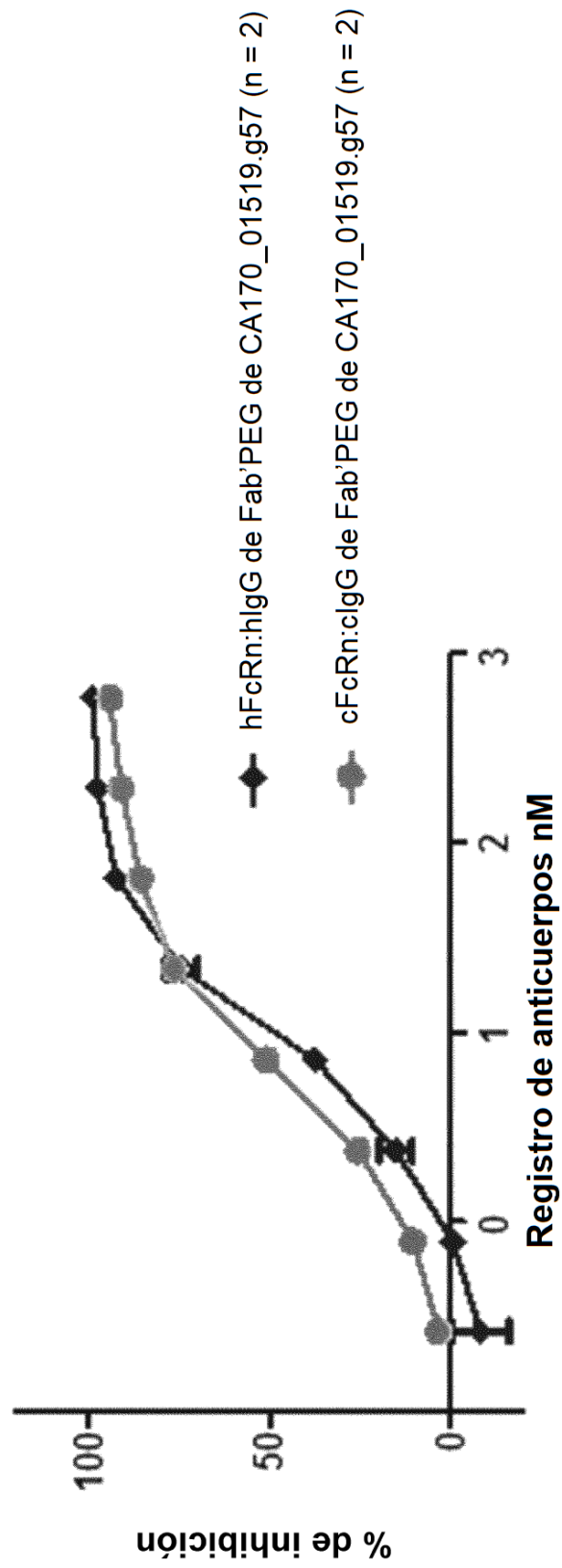


FIGURA 8 Macacos- dosis única de Fab'PEG de 1519 sobre los niveles de IgG en plasma

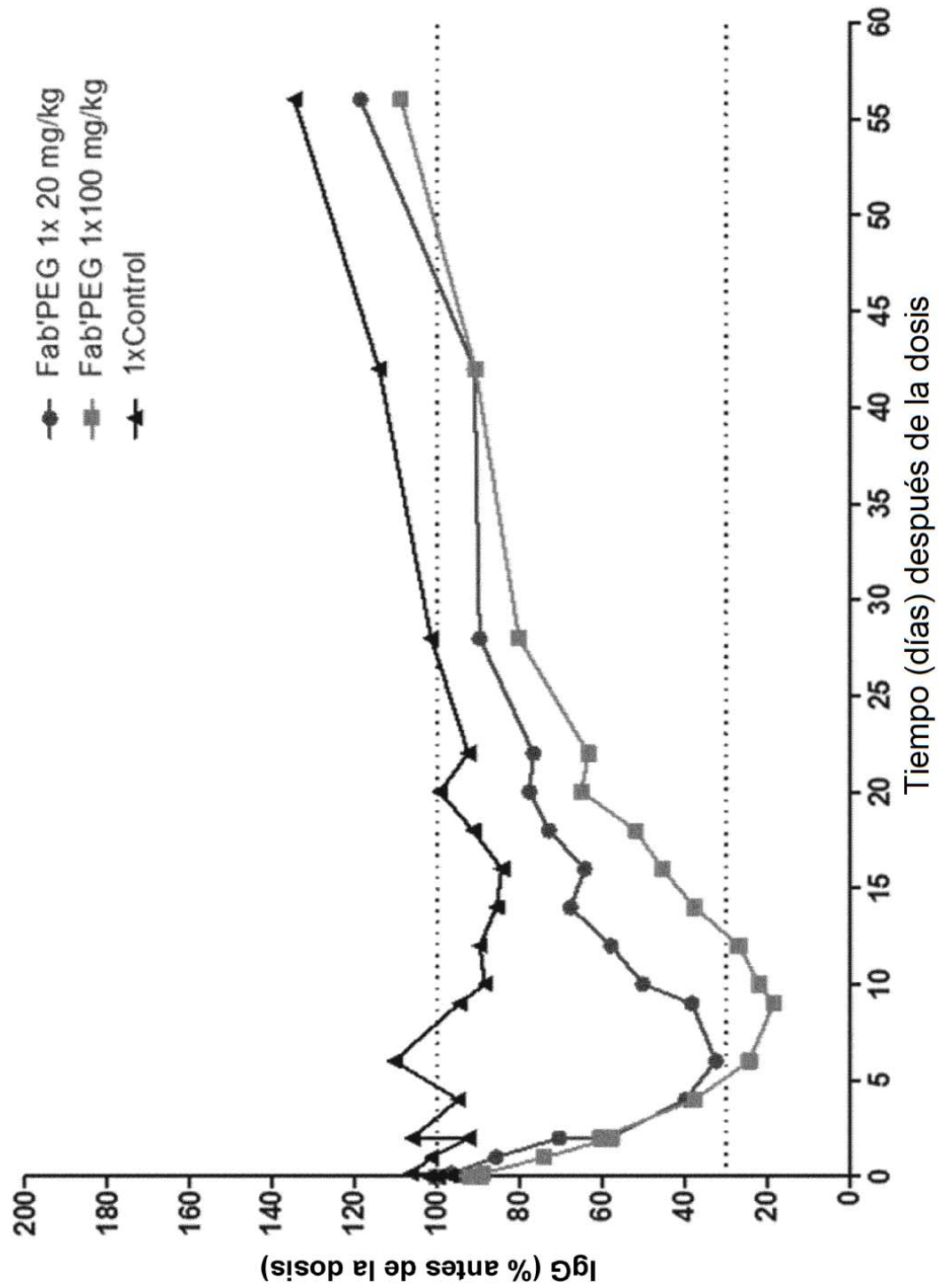


FIGURA 9 Macacos- 4 dosis semanales de Fab'PEG de 1519 sobre los niveles de IgG en plasma

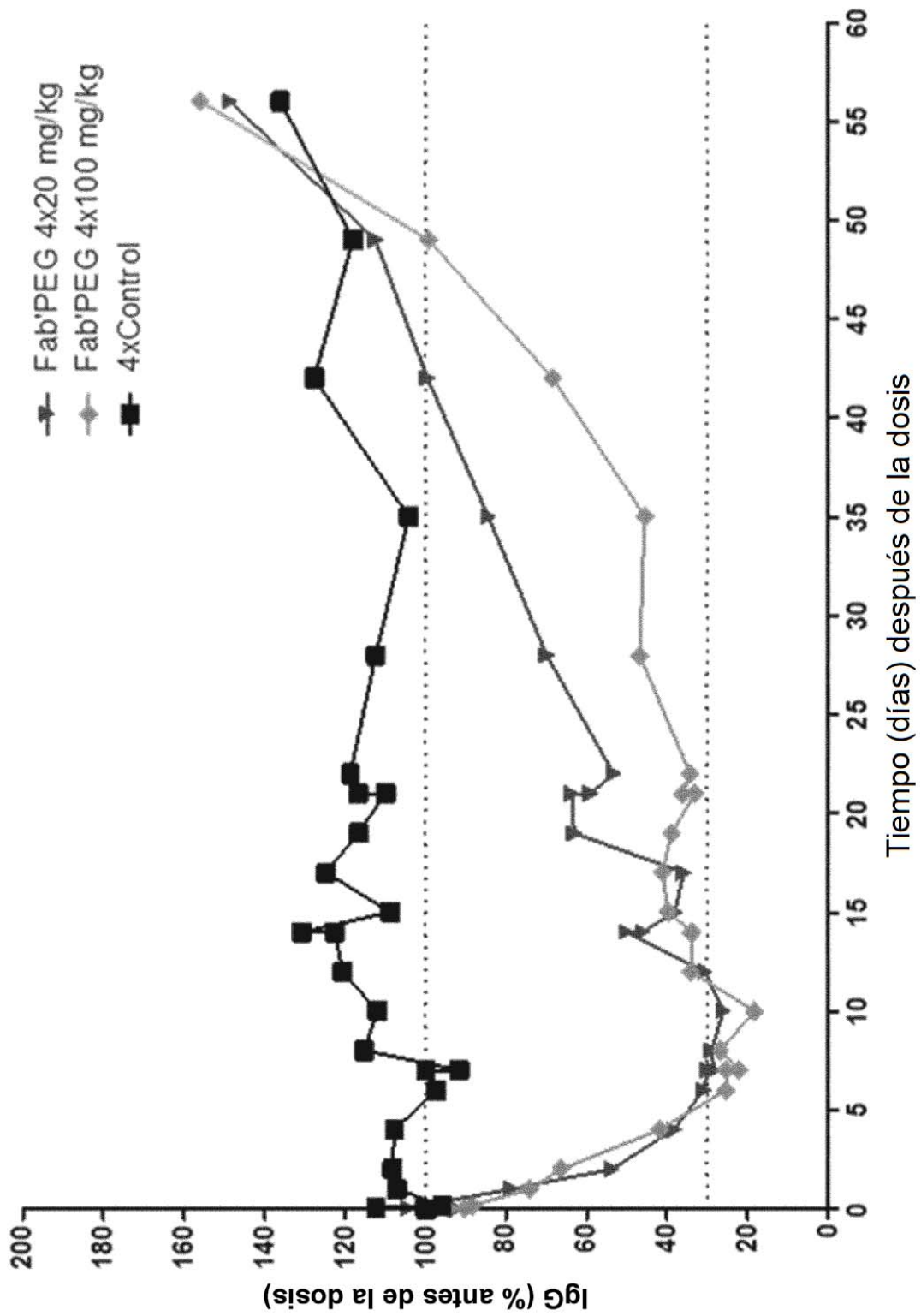


Figura 10

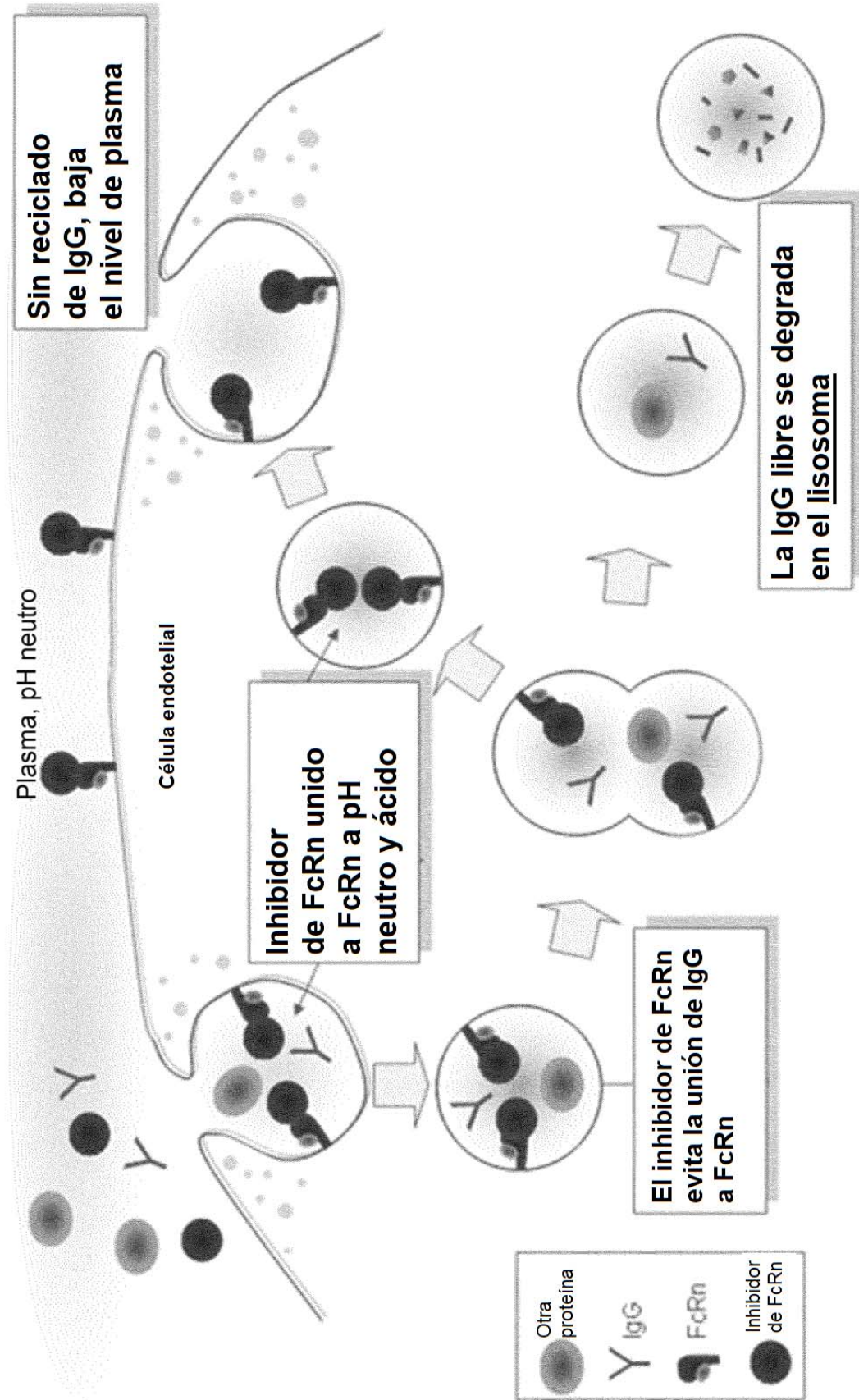


Figura 11 Citometría de flujo basada en ensayos inhibidores de IgG humana utilizando anticuerpos IgG gamma 1 purificados

Ac HuFcRn purificados para humanización – Inhibición de la unión de 488-IgG a HuFcRn (mut) en células HEK293

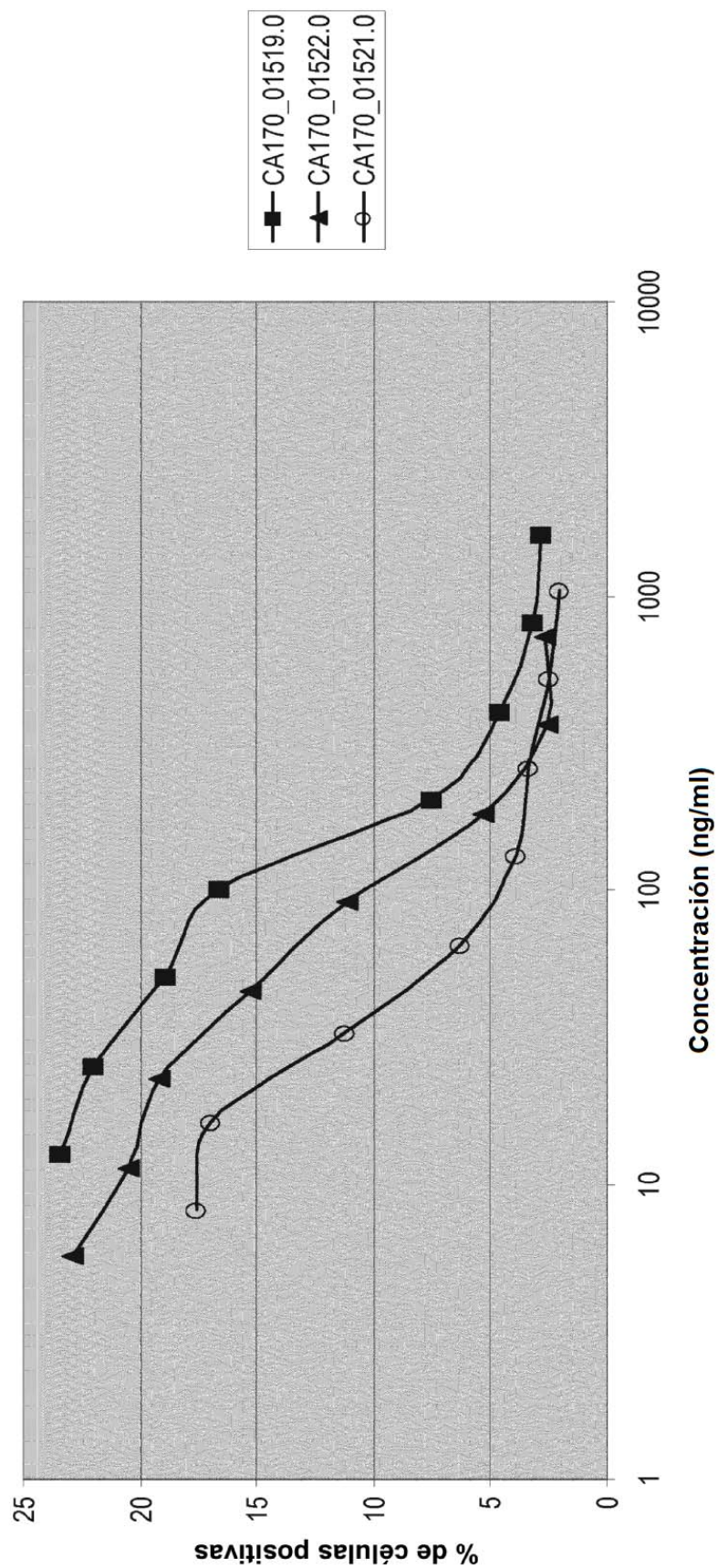


FIGURA 12 Dosis IV de Fab'PEG únicas/intermitentes en la farmacodinámica de IgG normal en macacos (4 animales n: 4-7) – Fab'PEG de 1519 20 mg/kg los días 1 y 67

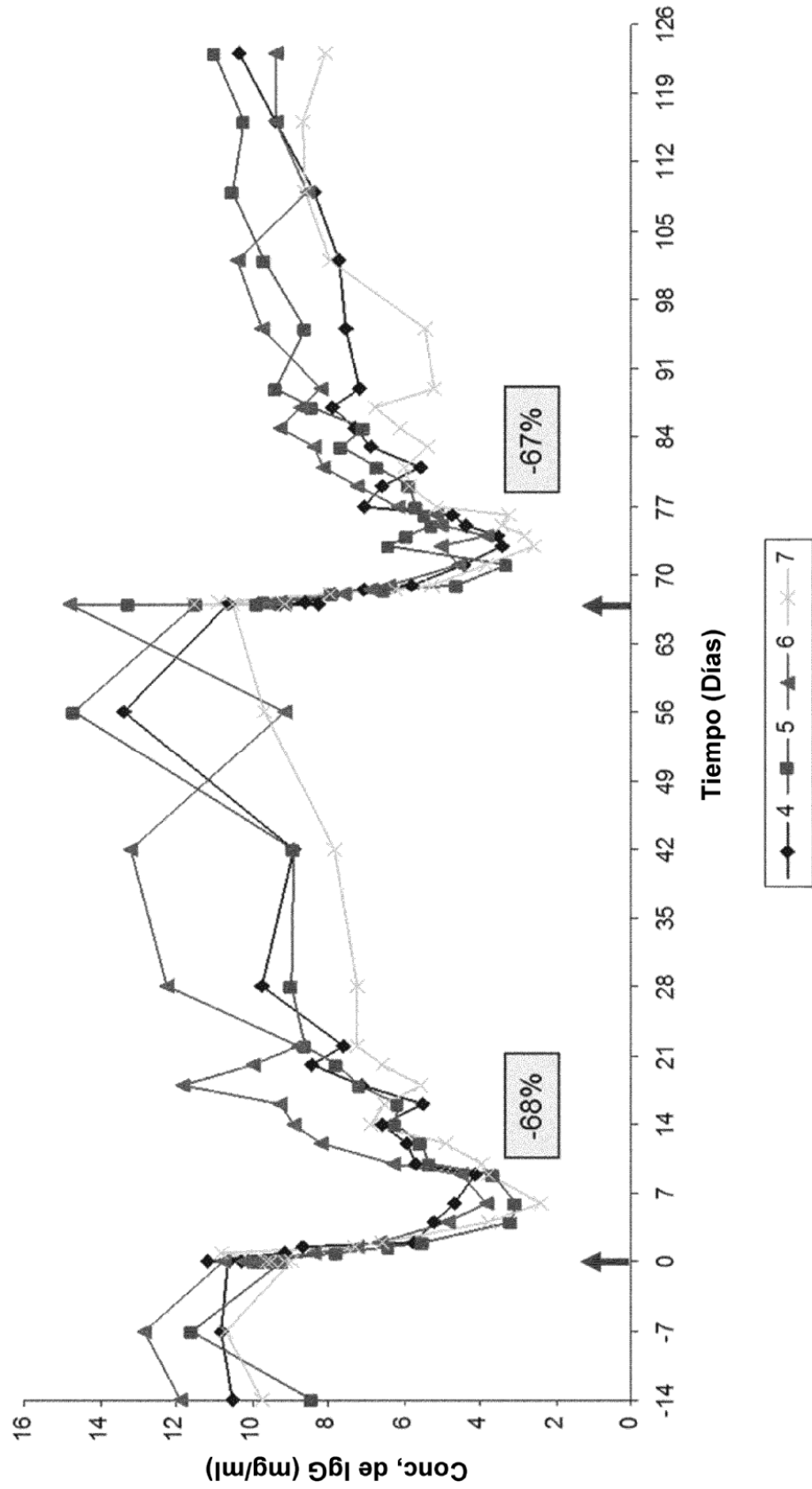


FIGURA 13 Dosis IV de Fab'PEG: repetidas en la farmacodinámica de IgG normal en macacos de 4 x 20 o 100 mg/kg (arriba y abajo, respectivamente) por semana (animales individuales)

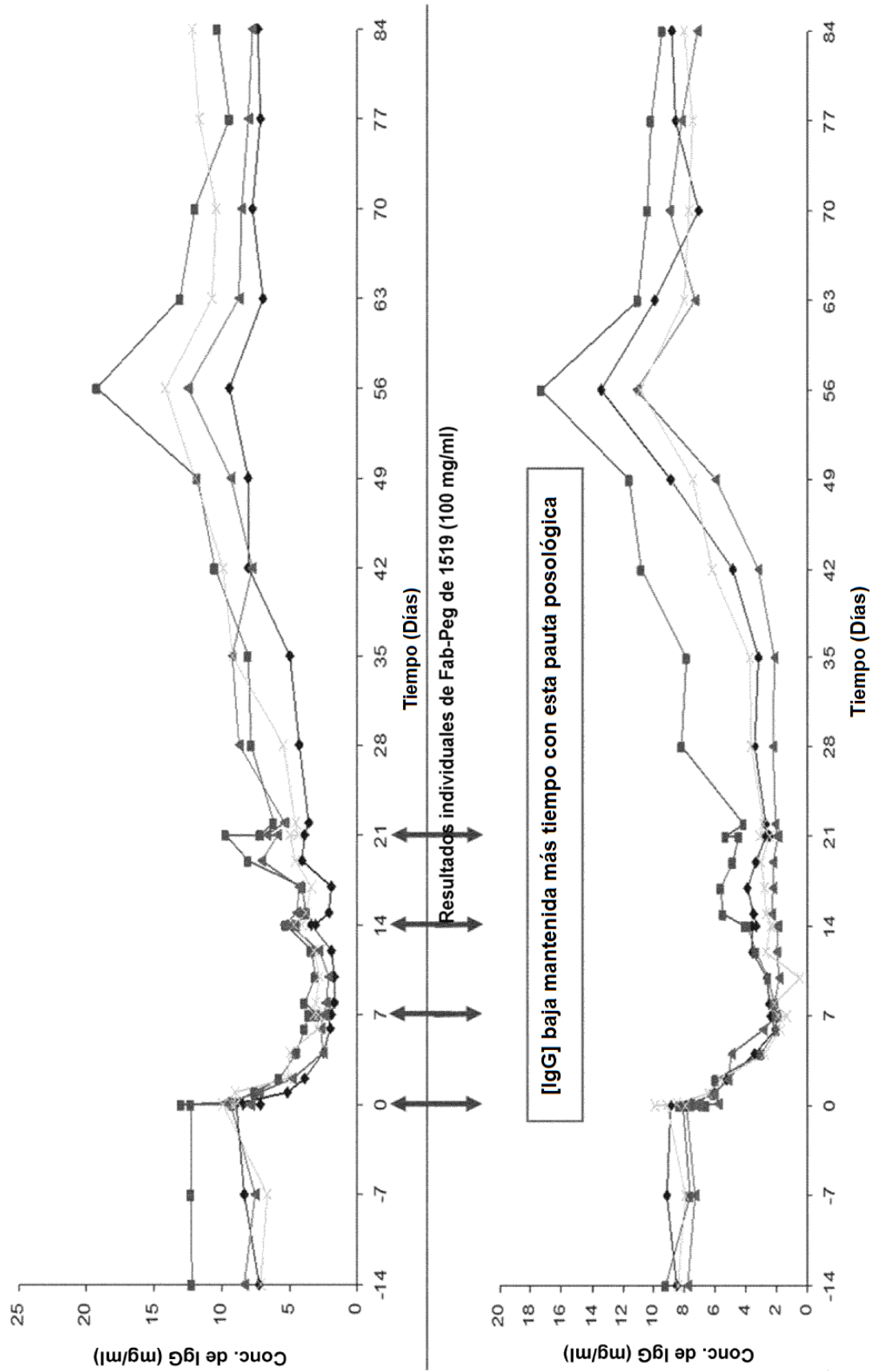


FIGURA 14 Dosis IV de Fab'PEG únicas/intermitentes en la farmacodinámica de IgG normal en macacos a 20 mg/kg y 100 mg/kg los días 1 y 67

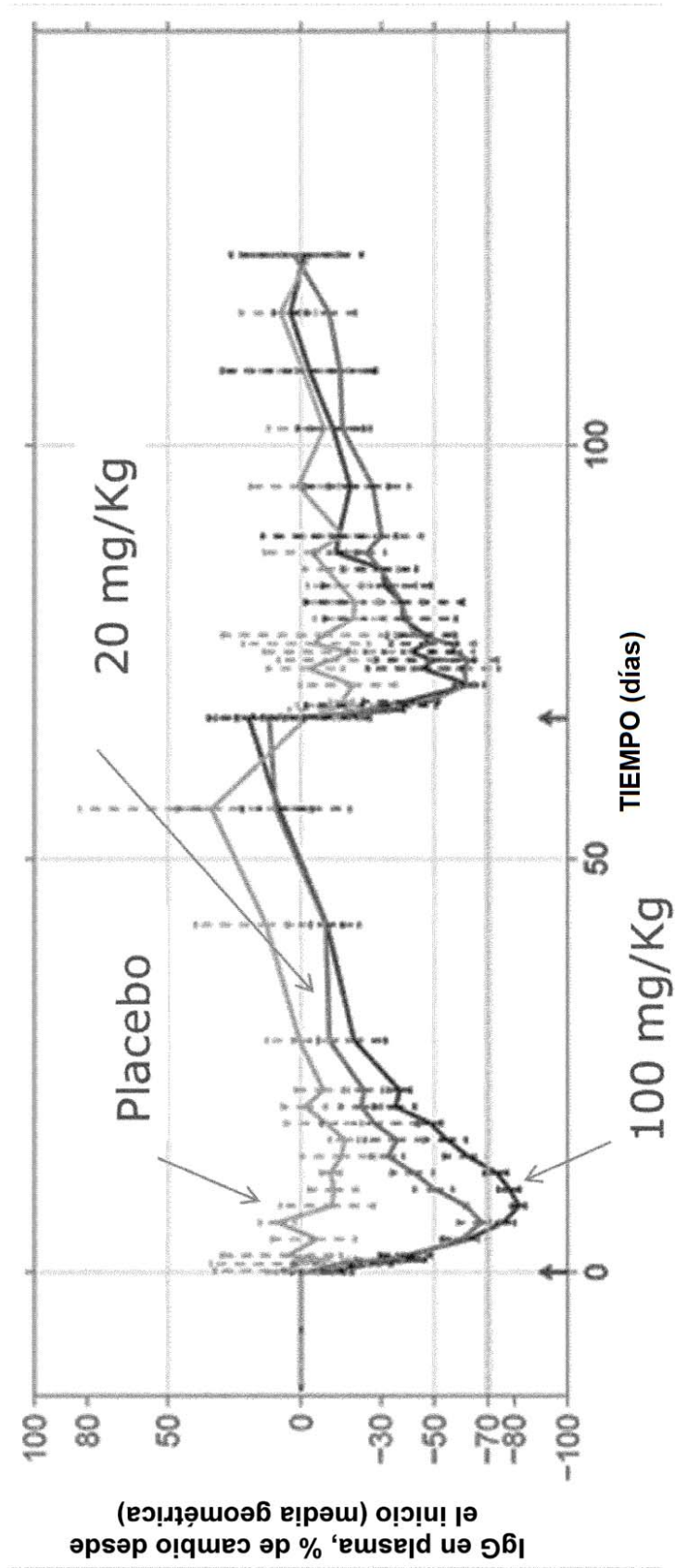


Figura 15 Cambios en los niveles de IgG en plasma en 4 macacos después de 2 dosis IV de 20 mg/kg de Fab'PEG de 1519.g57

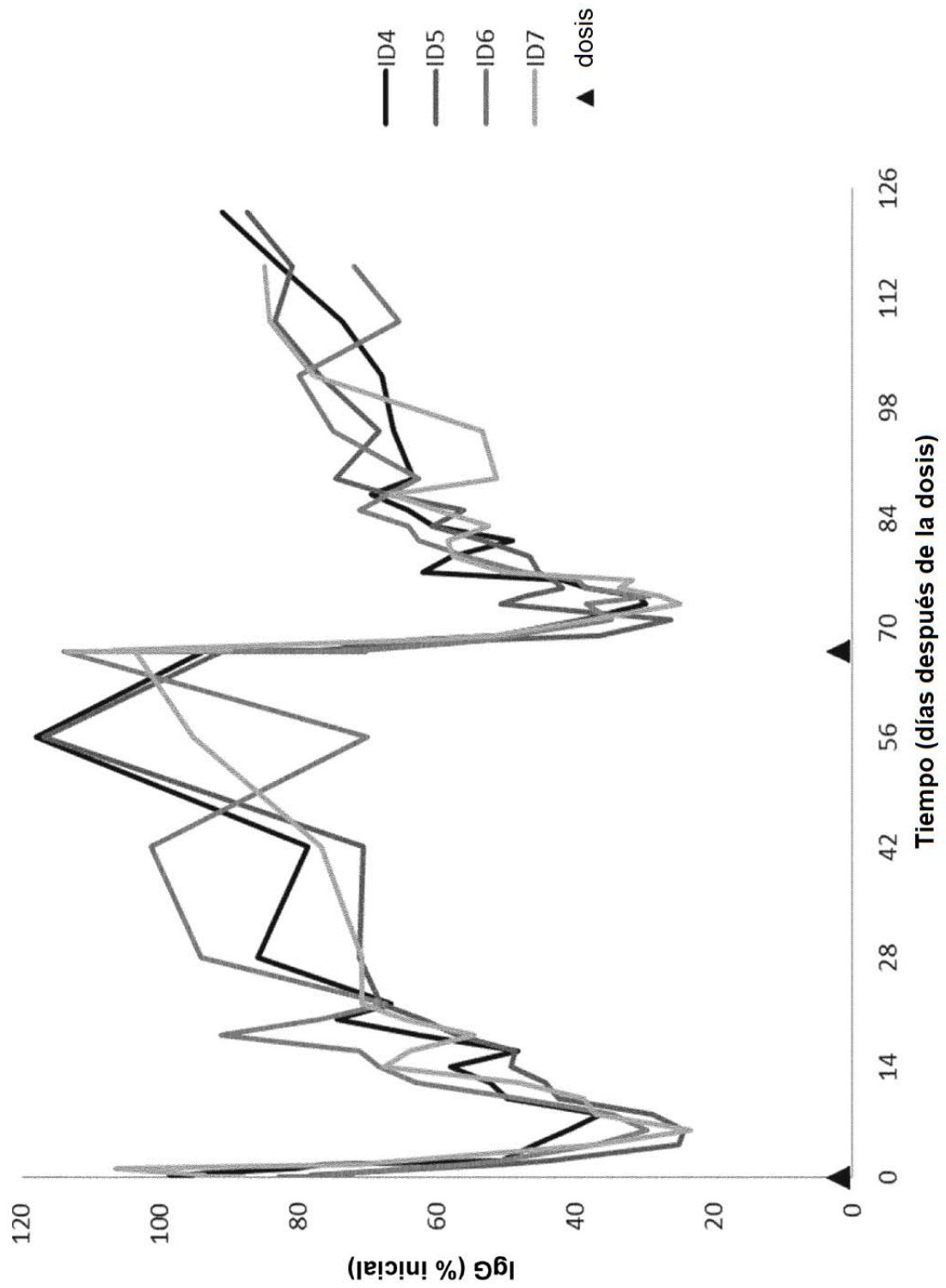


Figura 16 Cambios en los niveles de IgG en plasma en 4 macacos que reciben 10 dosis IV de 20 mg/kg de Fab'PEG de 1519.g57 cada 3 días

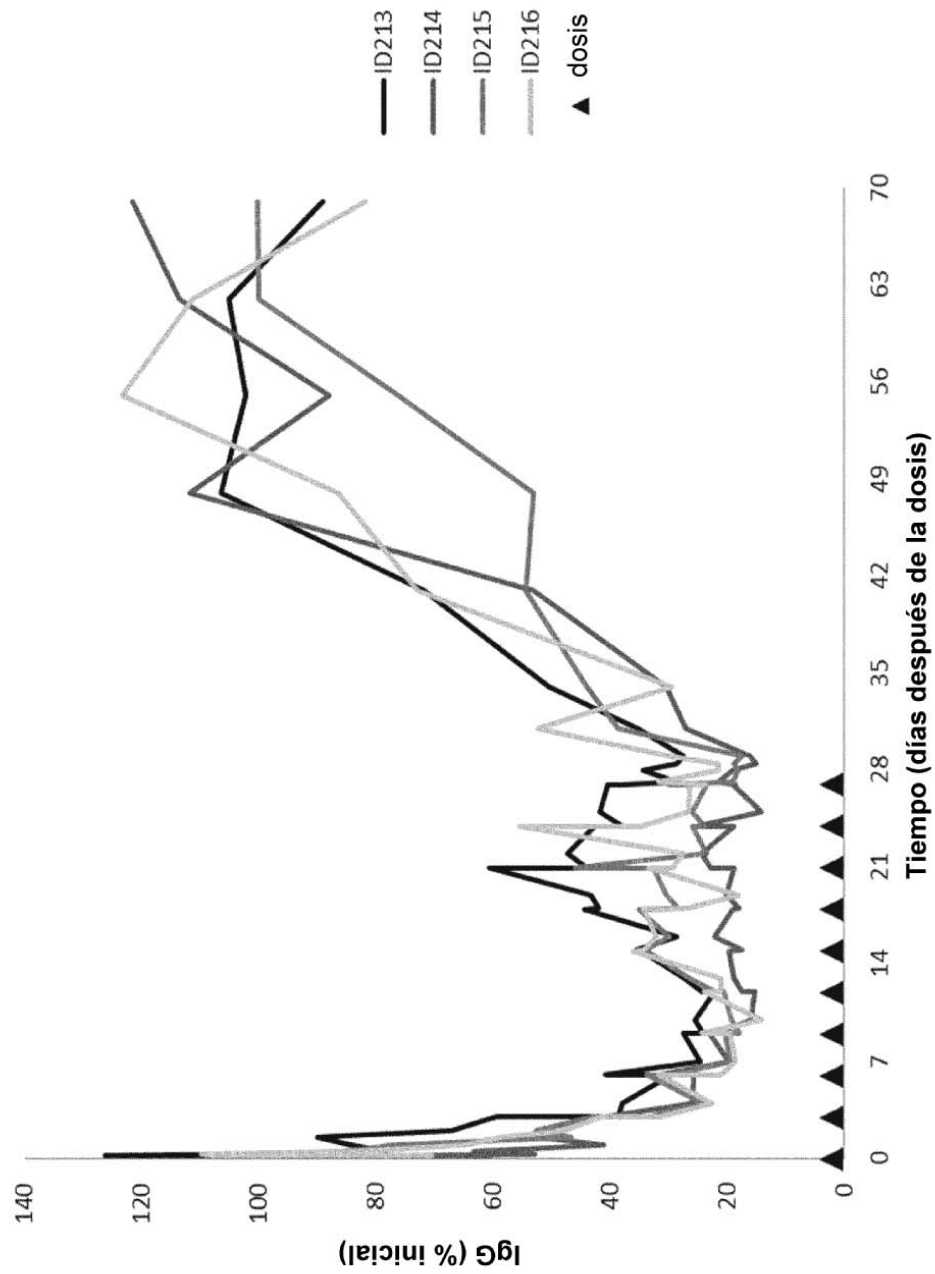


Figura 17 Cambios en los niveles de IgG en plasma en 4 macacos después de 2 dosis IV de 30 mg/kg de IgG4P de 1519.g57 i.v

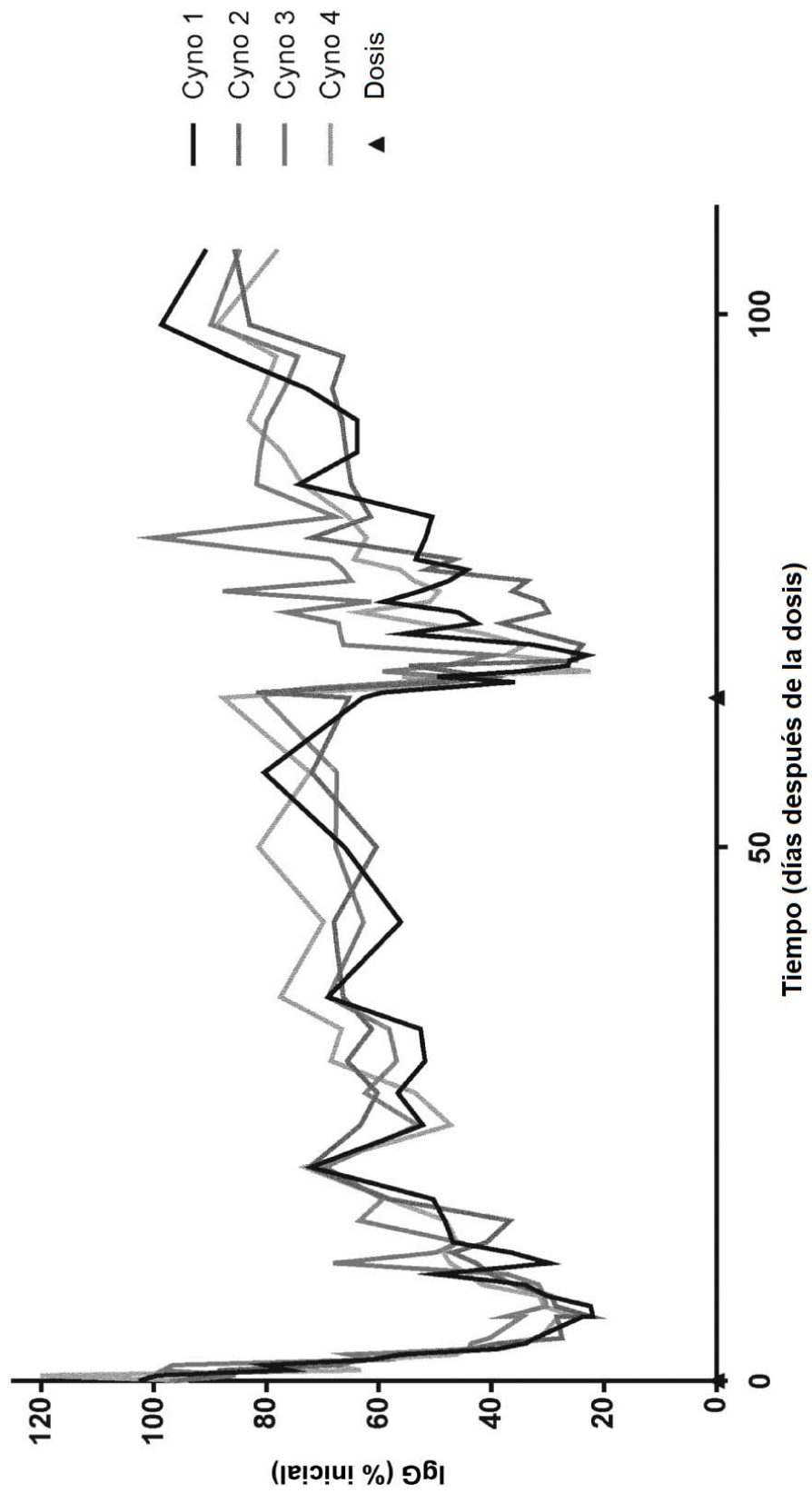


Figura 18 Cambios en los niveles de IgG en plasma en macacos tratados con 30 mg/kg de IgG4P de 1519.g57 en el día 0 seguido de 5 mg/kg de IgG4P de 1519.g57 diariamente durante 41 días

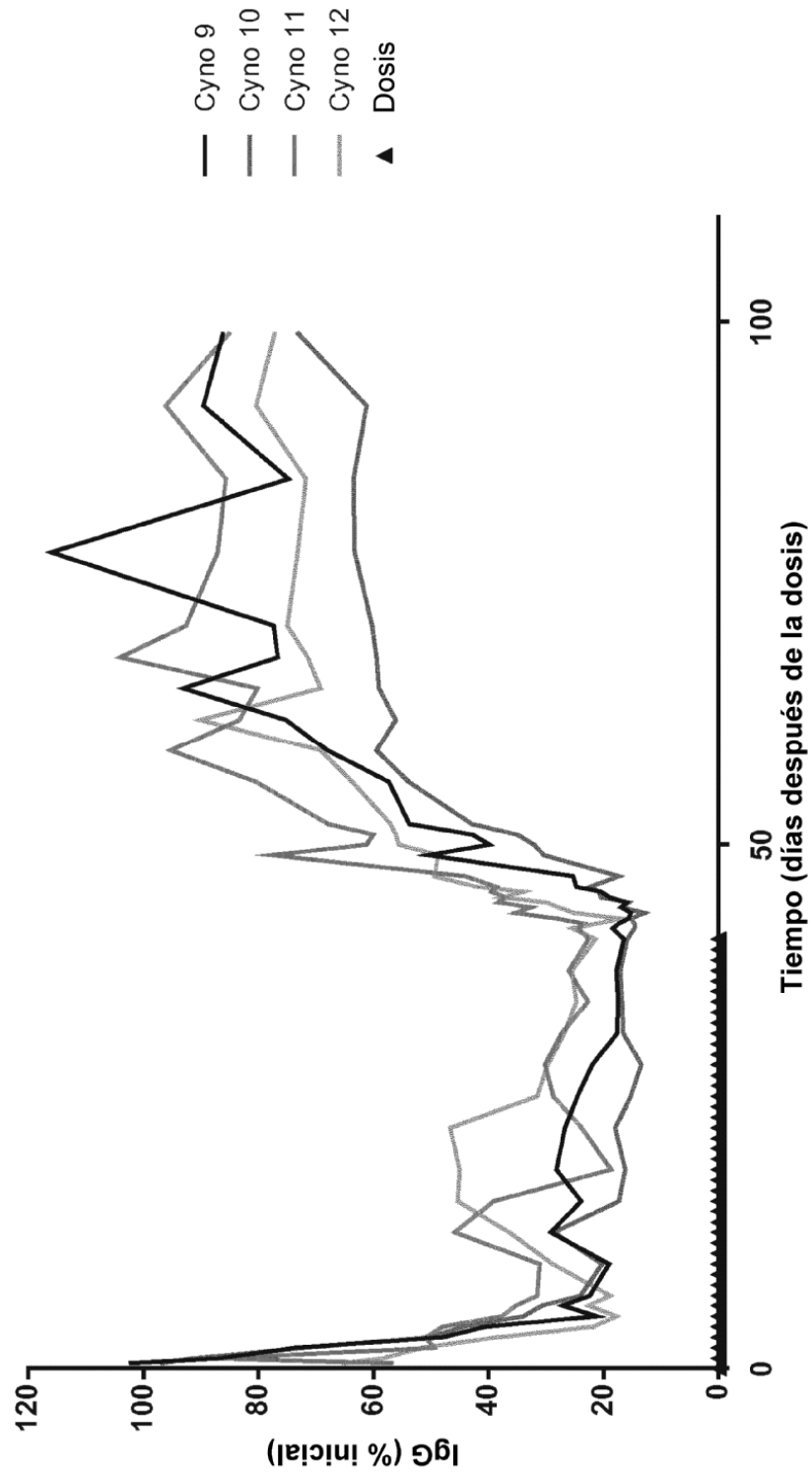


Figura 19 Cambios en los niveles de IgG en plasma en 4 macacos que reciben 42 dosis diarias de vehículo

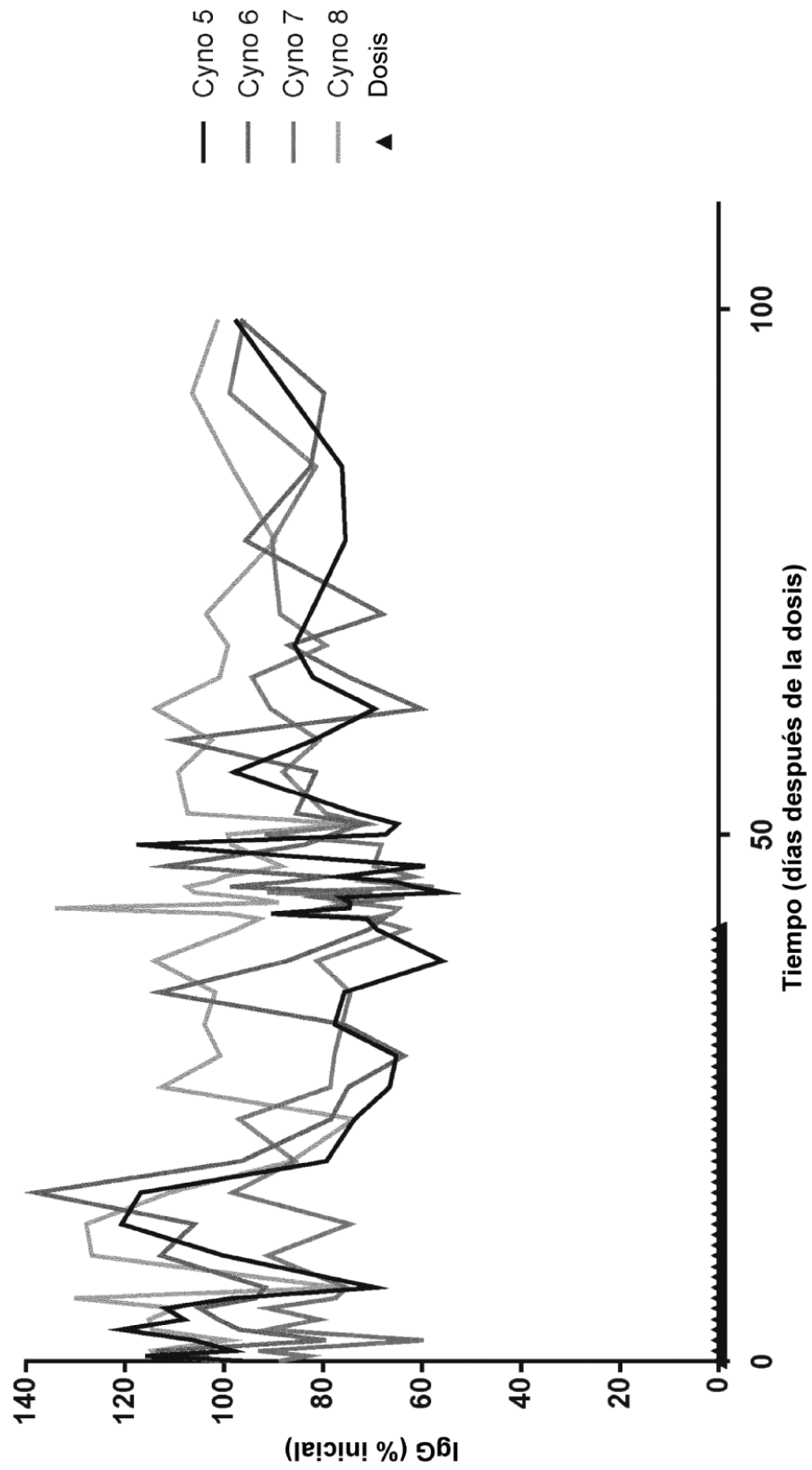


Figura 20 Aclaramiento aumentado de hIgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con Fab'PEG de CA170_01519.g57 o PBS IV

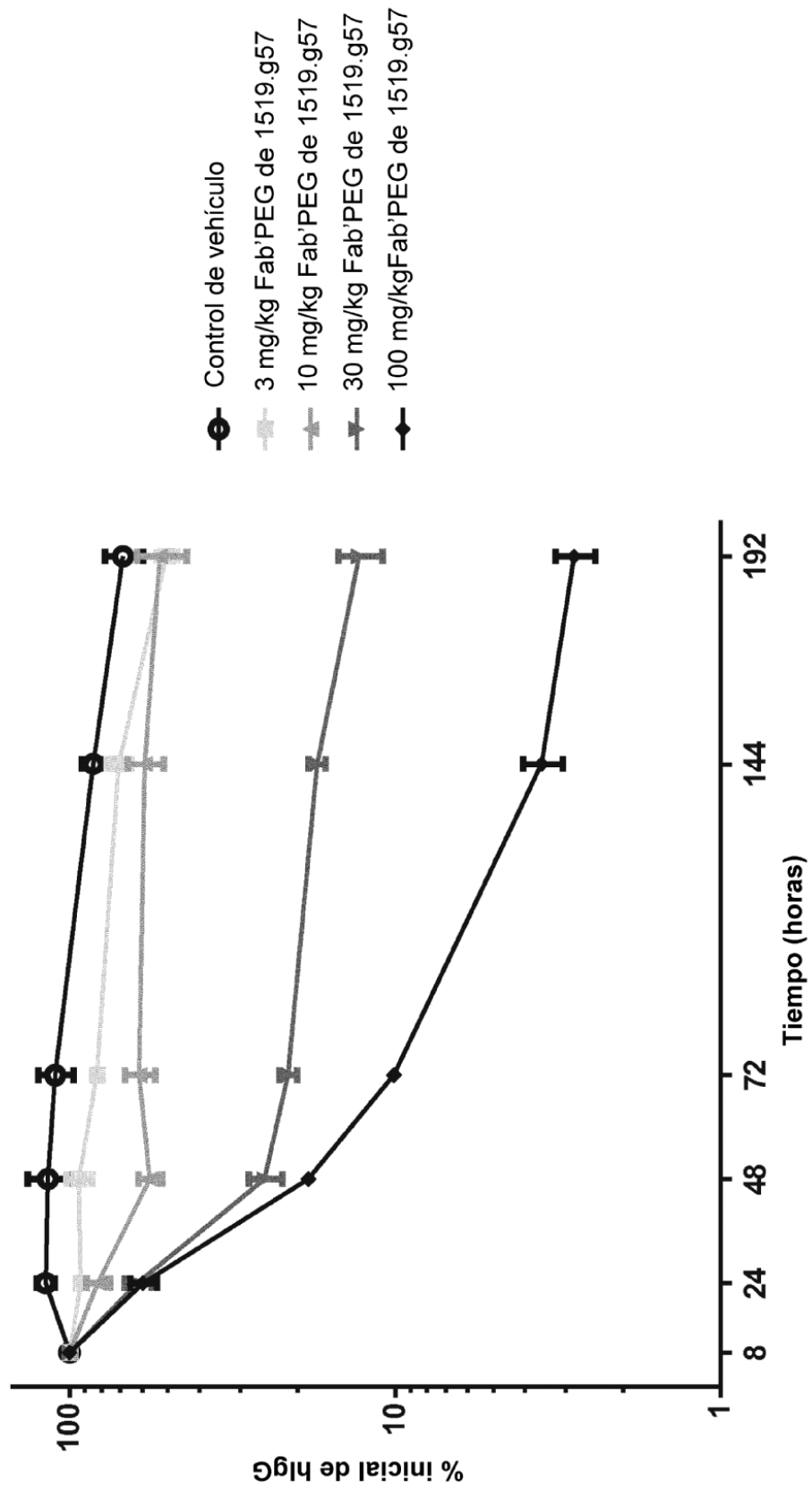


Figura 21 Aclaramiento aumentado de hIgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con IgG1 o IgG4 de CA170_01519.g57 o PBS IV

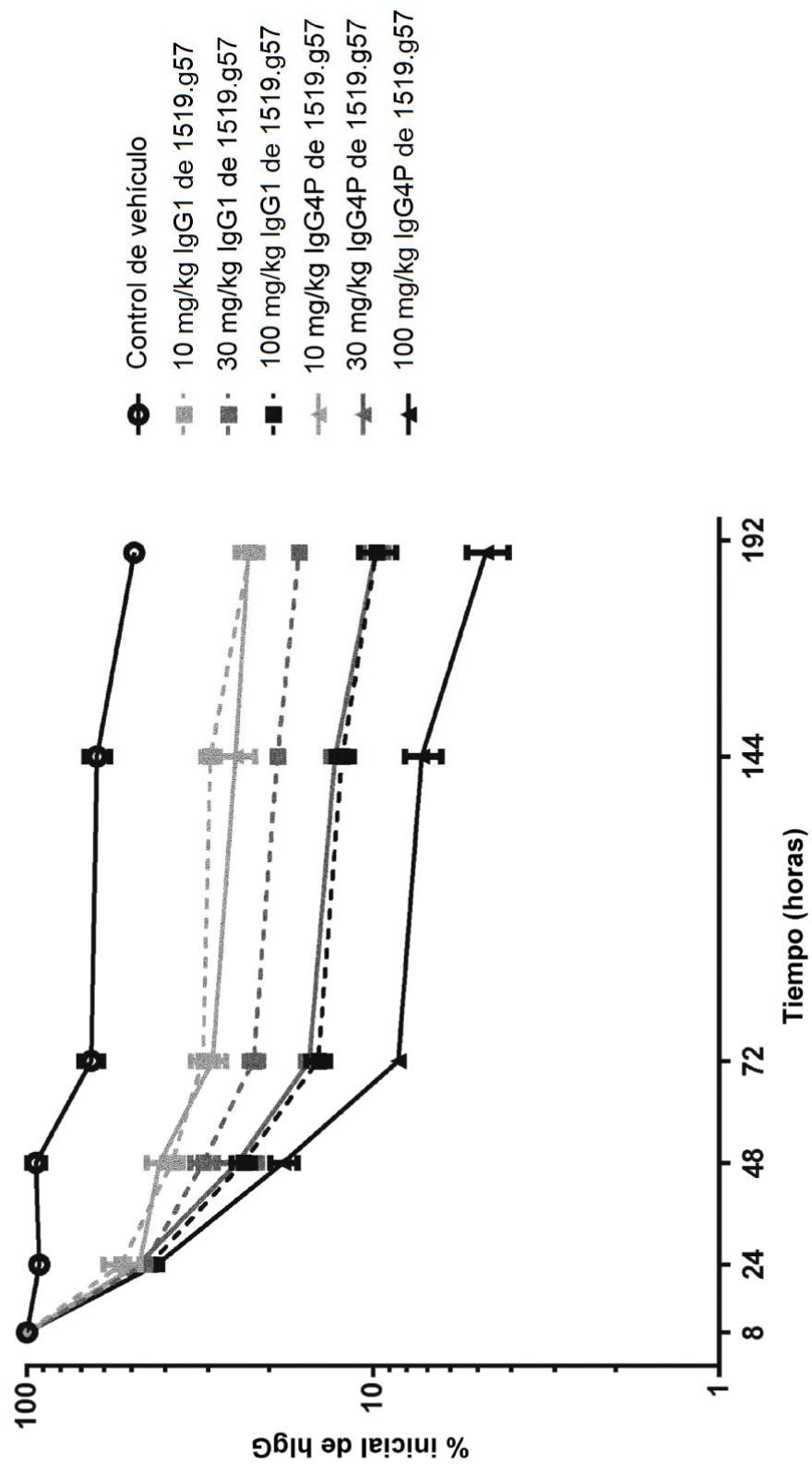


Figura 22 Aclaramiento aumentado de hIgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con Fab' - albúmina de suero humano de CA170_01519.g57 o PBS IV

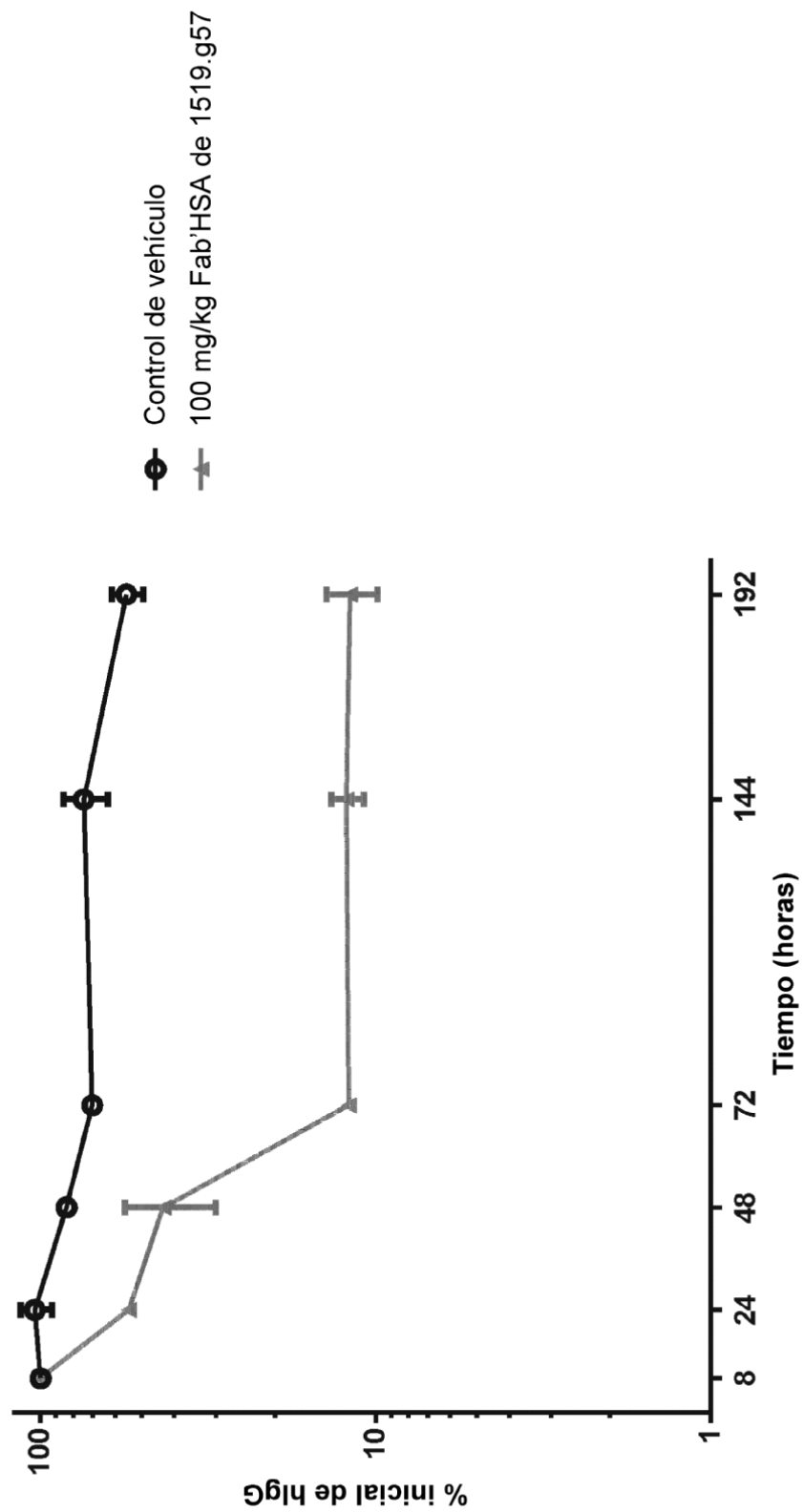


Figura 23 Aclaramiento aumentado de hIgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con Fab'Fv de CA170_01519.g57 o PBS IV

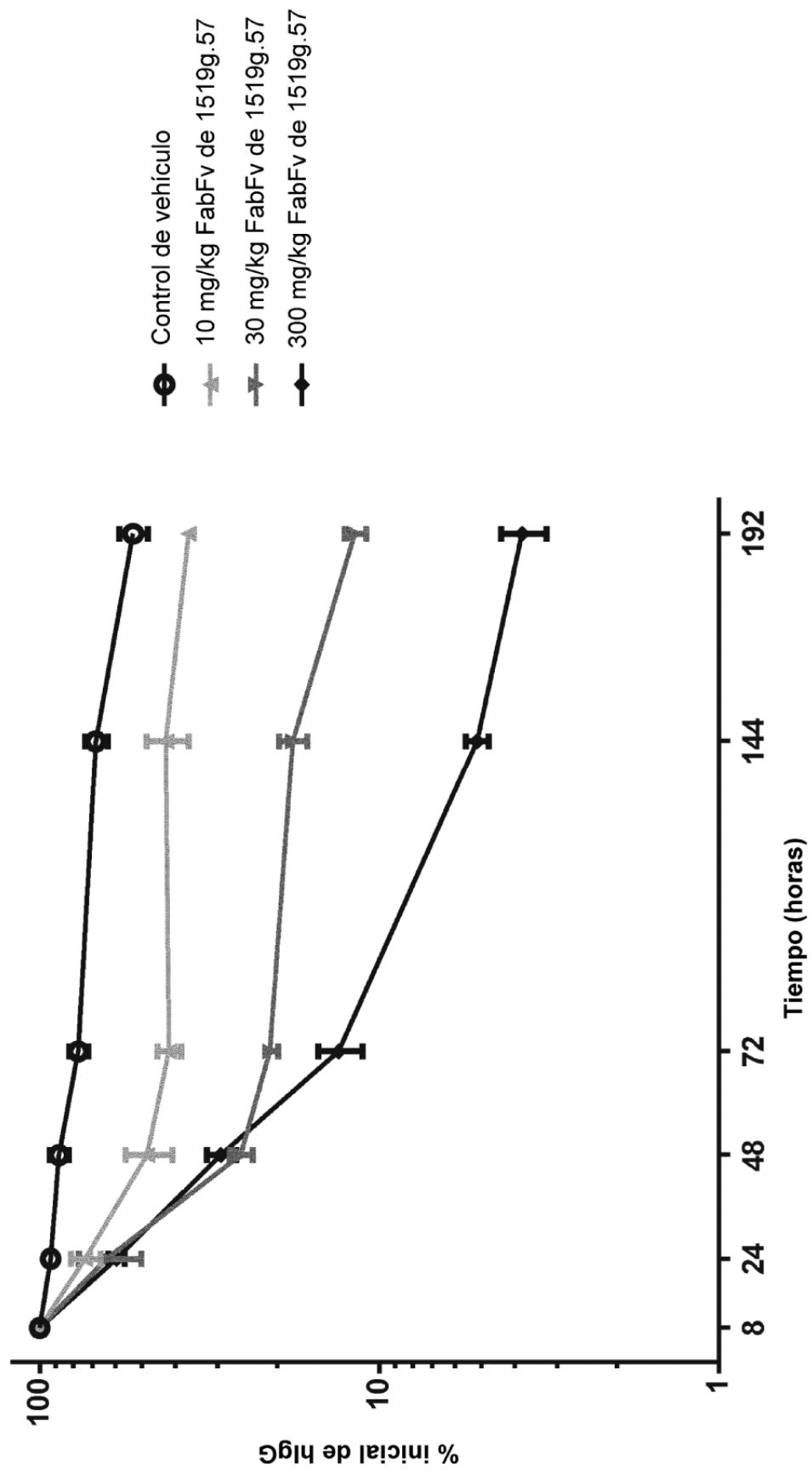


Figura 24 Aclaramiento aumentado de hIgG IV en plasma de ratones transgénicos hFcRn tratados con Fab o Fab'PEG de CA170_01519.g57 o PBS IV

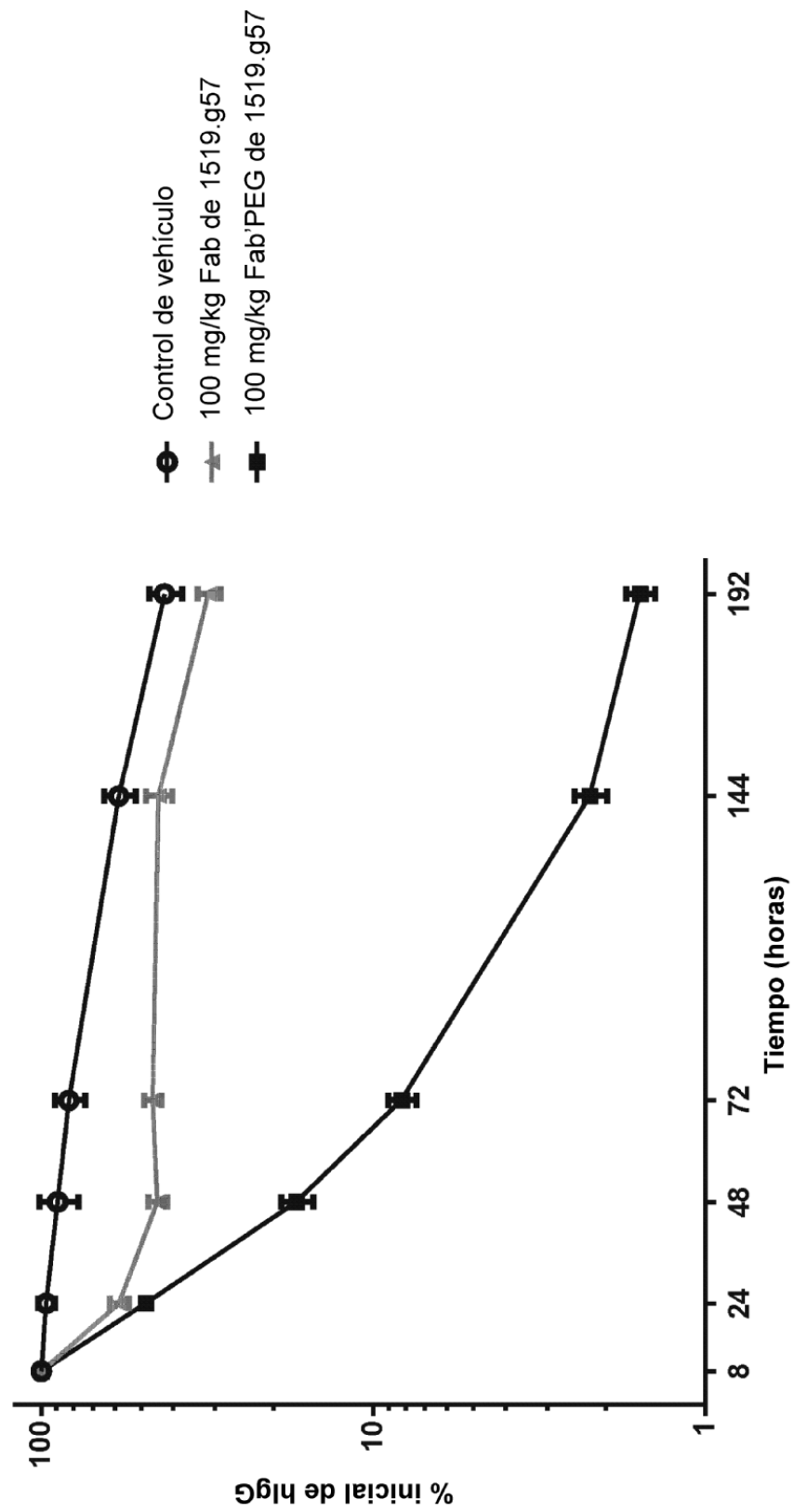


Figura 25

