

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 743 216**

51 Int. Cl.:

C07K 16/06 (2006.01)

C07K 16/28 (2006.01)

C07K 16/46 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

86 Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **17.03.2014** **PCT/US2014/030634**

87 Fecha y número de publicación internacional: **18.09.2014** **WO14145806**

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **17.03.2014** **E 14733393 (4)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **22.05.2019** **EP 2951203**

54 Título: **Proteínas heterodiméricas**

30 Prioridad:

15.03.2013 US 201361794896 P
01.05.2013 US 201361818401 P
01.05.2013 US 201361818153 P
01.05.2013 US 201361818344 P
09.12.2013 US 201361913832 P
09.12.2013 US 201361913879 P
09.12.2013 US 201361913870 P
14.01.2014 US 201414155334
14.01.2014 WO PCT/US2014/011549
10.02.2014 US 201461938095 P
11.03.2014 US 201414205248
12.03.2014 US 201414207489

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
18.02.2020

73 Titular/es:

XENCOR, INC. (100.0%)
111 W. Lemon Avenue
Monrovia, CA 91016 , US

72 Inventor/es:

MOORE, GREGORY;
DESJARLAIS, JOHN;
RASHID, RUMANA y
BERNETT, MATTHEW, J.

74 Agente/Representante:

ELZABURU, S.L.P

ES 2 743 216 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

Proteínas heterodiméricas

Prioridad

Esta solicitud es una continuación de parte de la Solicitud de Patente Internacional Núm. PCT/US14/11549, presentada el 14 de enero de 2014, Solicitudes de Patente de los Estados Unidos Núm. 14/155.334, presentada el 14 de enero de 2014, 14/205.248, presentada el 11 de Marzo de 2014 y 14/207.489, presentada el 12 de marzo de 2014. Adicionalmente, esta solicitud reivindica el beneficio de las Solicitudes de Patente de Estados Unidos Núm. 61/818.513, presentada el 1 de Mayo de 2013, 61/818.344, presentada el 1 de mayo de 2013, 61/794.896, presentada el 15 de marzo de 2013, 61/818.401, presentada el 1 de mayo de 2013, 61/913.879, presentada el 9 de diciembre de 2013, 61/913.832, presentada el 9 de diciembre de 2013, 61/938.095, presentada el 10 de febrero de 2014 y 61/913.870, presentada el 9 de diciembre.

Antecedentes de la invención

Los agentes terapéuticos basados en anticuerpos se han utilizado satisfactoriamente para el tratamiento de una variedad de enfermedades, incluido el cáncer y los trastornos autoinmunitarios/inflamatorios. Sin embargo, aún se necesitan mejoras en esta clase de fármacos, particularmente con respecto a la mejora de su eficacia clínica. Una vía que se está explorando es la modificación mediante ingeniería genética de sitios de unión a antígenos adicionales y novedosos en fármacos basados en anticuerpos, de modo que una sola molécula de inmunoglobulina vincule conjuntamente dos antígenos diferentes. Tales formatos de anticuerpos no nativos o alternativos que vinculan dos antígenos diferentes a menudo se denominan biespecíficos. Debido a que la considerable diversidad de la región variable del anticuerpo (Fv) hace posible producir un Fv que reconozca prácticamente cualquier molécula, el enfoque típico para la generación de moléculas biespecíficas es la introducción de nuevas regiones variables en el anticuerpo.

Se han explorado varios formatos de anticuerpos alternativos para el direccionamiento biespecífico (Chames y Baty, 2009, mAbs 1 [6]:1-9; Holliger y Hudson, 2005, Nature Biotechnology 23[9]:1126-1136; Kontermann, mAbs 4(2):182 (2012), todos los cuales se incorporan expresamente a la presente memoria como referencia). Inicialmente, los anticuerpos biespecíficos se elaboraron fusionando dos líneas celulares que producían cada una un solo anticuerpo monoclonal (Milstein et al., 1983, Nature 305:537-540). Aunque el hibridoma o cuádrima híbrido resultante produjo anticuerpos biespecíficos, eran solo una población menor, y se requirió una purificación exhaustiva para aislar el anticuerpo deseado. Una solución de la modificación mediante ingeniería genética para esto fue el uso de fragmentos de anticuerpos para elaborar moléculas biespecíficas. Debido a que tales fragmentos carecen de la compleja estructura cuaternaria de un anticuerpo completo, las cadenas ligeras y pesadas variables se pueden unir en construcciones genéticas únicas. Se han generado fragmentos de anticuerpos de muchas formas diferentes, incluidos diacuerpos, diacuerpos de cadena sencilla, scFv en tándem y Fab₂ biespecíficos (Chames y Baty, 2009, mAbs 1[6]:1-9; Holliger y Hudson, 2005, Nature Biotechnology 23[9]:1126-1136; expresamente incorporada a la presente memoria como referencia). Si bien estos formatos se pueden expresar a niveles altos en bacterias y pueden tener beneficios de penetración favorables debido a su pequeño tamaño, se eliminan rápidamente *in vivo* y pueden presentar obstáculos de fabricación relacionados con su producción y estabilidad. Una causa principal de estos inconvenientes es que los fragmentos de anticuerpos generalmente carecen de la región constante del anticuerpo con sus propiedades funcionales asociadas, que incluyen un mayor tamaño, alta estabilidad y unión a varios receptores y ligandos de Fc que mantienen una semivida prolongada en el suero (es decir, el receptor de Fc neonatal FcRn) o sirven como sitios de unión para la purificación (es decir, proteína A y proteína G).

Un trabajo más reciente ha intentado abordar las deficiencias de las moléculas biespecíficas basadas en fragmentos mediante modificaciones por ingeniería genética de la unión dual en formatos similares a anticuerpos completos (Wu et al., 2007, Nature Biotechnology 25[11]:1290-1297; USSN 12/477.711; Michaelson et al., 2009, mAbs 1[2]:128-141; PCT/US2008/074693; Zuo et al., 2000, Protein Engineering 13[5]:361-367; USSN 09/865.198; Shen et al., 2006, J Biol Chem 281[16]:10706-10714; Lu et al., 2005, J Biol Chem 280 [20]:19665-19672; PCT/US2005/025472; expresamente incorporadas a la presente memoria como referencia). Estos formatos superan algunos de los obstáculos de las moléculas biespecíficas de fragmentos de anticuerpos, principalmente porque contienen una región Fc. Una desventaja significativa de estos formatos es que, debido a que construyen nuevos sitios de unión al antígeno en la parte superior de las cadenas constantes homodiméricas, la unión al nuevo antígeno siempre es bivalente.

Para muchos antígenos que son atractivos como dianas conjuntas en un formato biespecífico terapéutico, la unión deseada es monovalente en lugar de bivalente. Para muchos receptores inmunitarios, la activación celular se logra mediante el entrecruzamiento de una interacción de unión monovalente. El mecanismo de entrecruzamiento está típicamente mediado por complejos inmunitarios de anticuerpo/antígeno, o a través de la vinculación de una célula efectora a la célula diana. Por ejemplo, los receptores de Fc gamma de baja afinidad (FcγR) tales como FcγRIIa, FcγRIIb y FcγRIIIa se unen de manera monovalente a la región Fc del anticuerpo. La unión monovalente no activa las células que expresan estos FcγR; sin embargo, tras la complejación inmunitaria o el contacto célula a célula, los receptores se entrecruzan y se agrupan sobre la superficie celular, lo que conduce a la activación. Para los

receptores responsables de la mediación de la destrucción celular, por ejemplo, FcγRIIIa en células asesinas naturales (NK), el entrecruzamiento del receptor y la activación celular se producen cuando la célula efectora se vincula a la célula diana en un formato altamente ávido (Bowles y Weiner, 2005, J Immunol Methods 304:88-99, expresamente incorporada como referencia). De manera similar, en las células B, el receptor inhibitor FcγRIIb regula por disminución la activación de las células B solamente cuando éste se vincula a un complejo inmunitario con el receptor de células B de la superficie celular (BCR), un mecanismo mediado por la complejación inmunitaria de IgG solubles con el mismo antígeno que es reconocido por BCR (Heyman 2003, Immunol Lett 88[2]:157-161; Smith y Clatworthy, 2010, Nature Reviews Immunology 10: 328-343; incorporada expresamente como referencia). Como otro ejemplo, la activación de CD3 de las células T ocurre solamente cuando su receptor de células T (TCR) asociado se vincula al MHC cargado de antígeno sobre las células presentadoras de antígeno en una sinapsis altamente ávida célula a célula (Kuhns et al., 2006, Immunity 24:133-139). De hecho, el entrecruzamiento bivalente inespecífico de CD3 utilizando un anticuerpo anti-CD3 provoca una tormenta de citocinas y toxicidad (Perruche et al., 2009, J Immunol 183[2]:953-61; Chatenoud y Bluestone, 2007, Nature Reviews Immunology 7:622-632; incorporada expresamente como referencia). Por lo tanto, para el uso clínico práctico, el modo preferido de vinculación conjunta de CD3 para la destrucción redirigida de células diana es la unión monovalente que da como resultado la activación solamente tras la vinculación a la diana vinculada conjuntamente.

Por lo tanto, mientras que las moléculas biespecíficas generadas a partir de fragmentos de anticuerpos sufren obstáculos biofísicos y farmacocinéticos, un inconveniente de aquellas construidas con formatos de tipo anticuerpo completo es que vinculan antígenos diana conjuntos de manera multivalente en ausencia del antígeno diana primario, lo que conduce a una activación inespecífica y potencialmente a toxicidad. La presente invención resuelve este problema mediante la introducción de un nuevo conjunto de formatos biespecíficos que permiten la vinculación conjunta multivalente de antígenos diana distintos. Además, la presente invención proporciona nuevas variantes de heterodimerización que permiten una mejor formación y purificación de proteínas heterodiméricas, incluidos los anticuerpos.

Breve compendio de la invención

En un aspecto, la presente invención proporciona anticuerpos heterodiméricos que comprenden un primer monómero que comprende un primer dominio constante de cadena pesada que comprende un primer dominio Fc variante y un primer dominio de unión a antígeno y un segundo monómero que comprende un segundo dominio constante de cadena pesada que comprende un segundo dominio Fc variante y un segundo dominio de unión a antígeno; en donde el primer dominio Fc variante comprende las sustituciones de aminoácidos S364K/E357Q y dicho segundo dominio Fc variante comprende las sustituciones de aminoácidos L386D/K370S.

En un aspecto adicional, el anticuerpo heterodimérico comprende un primer monómero que comprende una cadena pesada que comprende un primer dominio Fc y una región Fv de cadena sencilla (scFv) que se une a un primer antígeno, en donde el scFv comprende un conector de scFv cargado. El anticuerpo heterodimérico comprende adicionalmente un segundo monómero que comprende una primera cadena pesada que comprende un segundo dominio Fc y una primera cadena pesada variable y una primera cadena ligera. En un aspecto adicional, este conector cargado tiene una carga positiva de 3 a 8 o una carga negativa de 3 a 8 y se selecciona del grupo que consiste en aquellos conectores representados en la Figura 9.

En un aspecto adicional, la descripción proporciona composiciones de anticuerpos heterodiméricos que comprenden un primer monómero que comprende una primera secuencia de cadena pesada que comprende un primer dominio Fc variante en comparación con un dominio Fc humano; y un primer dominio de unión a antígeno que se une a un primer antígeno; y una segunda secuencia de cadena pesada que comprende: un segundo dominio Fc variante en comparación con un dominio Fc humano; y un segundo dominio de unión a antígeno que se une a un segundo antígeno; en donde el primer y segundo dominios Fc variantes comprenden un conjunto de sustituciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en los conjuntos de aminoácidos representados en la Figura 3.

En un aspecto adicional, la descripción proporciona composiciones de anticuerpos heterodiméricos que comprenden: un primer monómero que comprende una primera secuencia de cadena pesada que comprende un primer dominio Fc variante en comparación con un dominio Fc humano; y un primer dominio de unión a antígeno que se une a un primer antígeno; y una segunda secuencia de cadena pesada que comprende un segundo dominio Fc variante en comparación con un dominio Fc humano; y un segundo dominio de unión a antígeno que se une a CD 19. El segundo dominio de unión a antígeno comprende un dominio de cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de H1.227 (SEQ ID NO: X) y una cadena ligera variable seleccionada del grupo que consiste en la secuencia de aminoácidos de L1.198 (SEQ ID NO: X) y la secuencia de aminoácidos de 1.199 (SEQ ID NO: X) como se representa en la Figura 21.

En un aspecto adicional, la descripción proporciona una composición de anticuerpo heterodimérico que comprende un primer monómero que comprende una primera secuencia de cadena pesada que comprende un primer dominio Fc variante en comparación con un dominio Fc humano, un primer dominio de unión a antígeno que comprende una región variable anti-CD3 que tiene una secuencia que comprende una vhCDR1 que tiene la secuencia T-Y-A-M-Xaa1, en donde Xaa1 es N, S o H (SEQ ID NO: 435), una vhCDR2 que tiene la secuencia R-I-R-S-K-Xaa1-N-Xaa2-Y-A-T-Xaa3-Y-Y-A-Xaa4-S-V-K-G, en donde Xaa1 es Y o A, Xaa2 es N o S, Xaa3 es Y o A y Xaa4 es D o A (SEQ ID

NO: 436), una vhCDR3 que tiene la secuencia H-G-N-F-G-Xaa1-S-Y-V-S-W-F-Xaa2-Y, en donde Xaa1 es N, D o Q y Xaa2 es A o D (SEQ ID NO: 437), una vICDR1 que tiene la secuencia Xaa1-S-S-T-G-A-V-T-Xaa2-Xaa3-Xaa4-Y-A-N, en donde Xaa1 es G, R o K, Xaa2 es T o S, Xaa3 es S o G y Xaa4 es N o H, (SEQ ID NO: 438), una vICDR2 que tiene la secuencia Xaa1-T-N-Xaa2-R-A-Xaa3, en donde Xaa1 es G o D, Xaa2 es K o N, y Xaa3 es P o S (SEQ ID NO: 439) y una vICDR3 que tiene la secuencia Xaa1-L-W-Y-S-N-Xaa2-W-V, en donde Xaa1 es A o L y Xaa2 es L o H (SEQ ID NO: 440). El anticuerpo heterodimérico comprende adicionalmente un segundo monómero que comprende una segunda secuencia de cadena pesada que comprende un segundo dominio Fc variante en comparación con un dominio Fc humano; y un dominio de unión a antígeno anti-CD 19 que comprende un dominio de cadena pesada variable que comprende la secuencia de aminoácidos de H1.227 (SEQ ID NO: X) y una cadena ligera variable seleccionada del grupo que consiste en la secuencia de aminoácidos de L1.198 (SEQ ID NO: X) y la secuencia de aminoácidos de 1.199 (SEQ ID NO: X) como se representa en la Figura 21.

En un aspecto adicional, la descripción proporciona un anticuerpo heterodimérico que comprende un primer monómero que comprende una cadena pesada que comprende un primer dominio Fc variante; y una región Fv de cadena sencilla (scFv) que se une a un primer antígeno, en donde scFv comprende un conector de scFv cargado; y un segundo monómero que comprende una primera cadena pesada que comprende un segundo dominio Fc variante y una primera cadena pesada variable y el segundo monómero también comprende una primera cadena ligera, en donde el primer y el segundo dominio Fc variantes comprenden sustituciones de aminoácidos seleccionadas de grupo formado por las representadas en la Figura 7.

En un aspecto adicional, la descripción proporciona una composición de anticuerpo heterodimérico que comprende un primer monómero que comprende un primer dominio de unión a antígeno que comprende una región variable anti-CD3 que tiene una secuencia que comprende una vhCDR1 que tiene la secuencia T-Y-AM-Xaa1, en donde Xaa1 es N, S o H (SEQ ID NO: 435), una vhCDR2 que tiene la secuencia R-I-R-S-K-Xaa1-N-Xaa2-Y-A-T-Xaa3-Y-Y-A-Xaa4-S-V-K-G, en donde Xaa1 es Y o A, Xaa2 es N o S, Xaa3 es Y o A y Xaa4 es D o A (SEQ ID NO: 436), una vhCDR3 que tiene la secuencia H-G-N-F-G-Xaa1-S-Y-V-S-W-F-Xaa2-Y, en donde Xaa1 es N, D o Q y Xaa2 es A o D (SEQ ID NO: 437), una vICDR1 que tiene la secuencia Xaa1-S-S-T-G-A-V-T-Xaa2-Xaa3-Xaa4-Y-A-N, en donde Xaa1 es G, R o K, Xaa2 es T o S, Xaa3 es S o G y Xaa4 es N o H, (SEQ ID NO: 438), una vICDR2 que tiene la secuencia Xaa1-T-N-Xaa2-R-A-Xaa3, en donde Xaa1 es G o D, Xaa2 es K o N, y Xaa3 es P o S (SEQ ID NO: 439) y una vICDR3 que tiene la secuencia Xaa1-L-W-Y-S-N-Xaa2-W-V, en donde Xaa1 es A o L y Xaa2 es L o H (SEQ ID NO: 440). El primer monómero también comprende una primera secuencia de cadena pesada que comprende un primer dominio Fc variante en comparación con un dominio Fc humano. El anticuerpo heterodimérico también comprende un segundo monómero que comprende un segundo dominio de unión a antígeno; y una segunda secuencia de cadena pesada que comprende un segundo dominio Fc variante en comparación con un dominio Fc humano y en donde el primer y el segundo dominios Fc variantes tienen diferentes secuencias de aminoácidos. En algunas realizaciones, la región variable anti-CD3 comprende una vhCDR1 que tiene la secuencia T-Y-A-M-Xaa1, en donde Xaa1 es N, S o H (SEQ ID NO: 435), una vhCDR2 que tiene la secuencia R-I-R-S-K-Xaa1-N-Xaa2-Y-A-T-Xaa3-Y-Y-A-Xaa4-S-V-K-G, en donde Xaa1 es Y o A, Xaa2 es N o S, Xaa3 es Y o A y Xaa4 es D o A (SEQ ID NO: 436), una vhCDR3 que tiene la secuencia H-G-N-F-G-Xaa1-S-Y-V-S-W-F-Xaa2-Y, en donde Xaa1 es N, D o Q y Xaa2 es A o D (SEQ ID NO: 437), una vICDR1 que tiene la secuencia Xaa1-S-S-T-G-A-V-T-Xaa2-Xaa3-Xaa4-Y-A-N, en donde Xaa1 es G, R o K, Xaa2 es T o S, Xaa3 es S o G y Xaa4 es N o H, (SEQ ID NO: 438), una vICDR2 que tiene la secuencia Xaa1-T-N-Xaa2-R-A-Xaa3, en donde Xaa1 es G o D, Xaa2 es K o N, y Xaa3 es P o S (SEQ ID NO: 439) y una vICDR3 que tiene la secuencia Xaa1-L-W-Y-S-N-Xaa2-W-V, en donde Xaa1 es A o L y Xaa2 es L o H (SEQ ID NO: 440).

En un aspecto adicional, la descripción proporciona proteínas heterodiméricas que comprenden un primer monómero que comprende una primera región constante de cadena pesada variante y un primer compañero de fusión; y un segundo monómero que comprende una segunda región constante de cadena pesada variante y un segundo compañero de fusión, en donde la región Fc de la primera y segunda regiones constantes comprende un conjunto de sustituciones de aminoácidos de las Figuras 3 y 12. En algunos casos, el primer monómero comprende un tercer compañero de fusión y opcionalmente el segundo monómero comprende un cuarto compañero de fusión. Los compañeros de fusión se seleccionan independientemente del grupo que consiste en un componente de inmunoglobulina, un péptido, una citocina, una quimiocina, un receptor inmunitario y un factor sanguíneo. En algunos casos, el componente de inmunoglobulina se selecciona del grupo que consiste en Fab, VH, VL, scFv, scFv2, dAb.

En muchos aspectos, uno del primer y segundo dominios Fc variantes comprende sustituciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en las representadas en las Figuras 6, 7 y/o 12. En algunos aspectos, el primer dominio de unión a antígeno es un scFv anclado covalentemente al primer dominio constante de la cadena pesada. En aspectos adicionales, el anticuerpo heterodimérico tiene una estructura seleccionada entre las estructuras de las Figuras 1B a 1L y 2A a 2M. En aspectos adicionales, el primer y/o segundo dominios Fc del anticuerpo heterodimérico comprenden adicionalmente las sustituciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en 434A, 434S, 428L, 308F, 259I, 428L/434S, 259I/308F, 436I/428L, 436I o V/434S, 436V/428L, 252Y, 252Y/254T/256E, 259I/308F/428L, 236A, 239D, 239E, 332E, 332D, 239D/332E, 267D, 267E, 328F, 267E/328F, 236A/332E, 239D/332E/330Y, 239D, 332E/330L, 236R, 328R, 236R/328R, 236N/267E, 243L, 298A y 299T. En algunos aspectos, uno del primer y segundo dominios Fc variantes comprende las sustituciones de aminoácidos 364K/E357Q y el otro comprende las sustituciones de aminoácidos 368D/370S. Estos anticuerpos pueden comprender adicionalmente sustituciones de aminoácidos seleccionadas del grupo que consiste en las enumeradas

en la Figura 7.

En aspectos adicionales, la presente invención proporciona ácidos nucleicos, vectores de expresión y células anfitrionas que producirán las proteínas y anticuerpos heterodiméricos de la invención.

En aspectos adicionales, la invención proporciona métodos para elaborar las proteínas heterodiméricas de la invención cultivando células anfitrionas que comprenden los ácidos nucleicos que codifican las proteínas y anticuerpos heterodiméricos de la invención en condiciones en las que se produce el heterodímero y recuperando el heterodímero.

En un aspecto adicional, la invención proporciona métodos para fabricar un anticuerpo heterodimérico de la invención que comprenden proporcionar un primer ácido nucleico que codifica una primera cadena pesada que comprende una primera cadena pesada que comprende un primer dominio Fc y una región Fv de cadena sencilla (scFv) que se une a un primer antígeno, en donde dicho scFv comprende un conector cargado; y proporcionar un segundo ácido nucleico que codifica una segunda cadena pesada que comprende un segundo dominio Fc, una primera cadena pesada variable; y proporcionar un tercer ácido nucleico que comprende una cadena ligera. El método comprende adicionalmente expresar el primer, segundo y tercer ácidos nucleicos en una célula anfitriona para producir una primera, segunda y tercera secuencias de aminoácidos, respectivamente, cargando la primera, segunda y tercera secuencias de aminoácidos en una columna de intercambio iónico; y recolectar la fracción heterodimérica.

En aspectos adicionales, la invención proporciona métodos para el tratamiento de un individuo que lo necesita mediante la administración de un anticuerpo heterodimérico de la invención.

Breve descripción de los dibujos

Formatos y variantes de heterodimerización

Las Figuras 1A-1M representan varios formatos de proteínas heterodiméricas, que incluyen proteínas de fusión a Fc heterodiméricas, así como anticuerpos heterodiméricos. La Figura 1A muestra el concepto básico de una región Fc dimérica con cuatro posibles compañeros de fusión A, B, C y D. A, B, C y D se seleccionan opcional e independientemente entre los dominios de inmunoglobulina (p. ej., Fab, vH, vL, scFv, scFv₂, scFab, dAb, etc.), péptidos, citocinas (p. ej., IL-2, IL-10, IL-12, GCSF, GM-CSF, etc.), quimiocinas (p. ej., RANTES, CXCL9, CXCL10, CXCL12, etc.), hormonas (p. ej., FSH, hormona del crecimiento), receptores inmunitarios (p. ej., CTLA-4, TNFR1, TNFR2, otro TNFSF, otro TNFRSF, etc.) y factores sanguíneos (p. ej. Factor VII, Factor VIII, Factor IX, etc.). Los dominios rellenos con color blanco o negro están diseñados mediante ingeniería genética con variantes de heterodimerización como se señala en la presente memoria. La Figura 1B representa el formato "triple F" (a veces también denominado configuración de "abridor de botella" como se comenta a continuación). La Figura 1C muestra una configuración "triple F" con otro scFv anclado al monómero Fab (ésta, junto con la Figura 1F, tiene también un mayor diferencial de peso molecular). La Figura 1D de la figura representa una "triple F" con otro scFv anclado al monómero scFv. La Figura 1E representa un formato de "tres scFv". La Figura 1F representa un Fab adicional anclado al monómero Fab. La Figura 1G muestra un Fab enganchado a uno de los monómeros scFv. Las Figuras 1H-1L muestran variedades adicionales de realizaciones de "multiespecificidad superior" del formato "triple F", todas con un monómero que comprende un scFv (y todos los cuales tienen diferenciales de peso molecular que se pueden explotar para la purificación de los heterodímeros). La Figura 1H muestra un formato "Fab-Fv" con unión a dos antígenos diferentes, y la Figura 1I representa el formato "Fab-Fv" con unión a un único antígeno (p. ej., unión bivalente al antígeno 1). Las Figuras 1J y 1K representan un formato "Fv-Fab" con una unión al antígeno adicional bivalente o monovalente similar. La Figura 1L representa un monómero con un CH1-CL anclado al segundo scFv. La Figura 1M representa un formato scFv dual. En algunas realizaciones, no se prefiere el formato triple F.

Las Figuras 2A a 2U representan una amplia variedad de formatos multiespecíficos (p. ej., heterodimerización) y las combinaciones de diferentes tipos de variantes de heterodimerización que se pueden utilizar en la presente invención (a veces se hace referencia a estos en la presente memoria como "armazones heterodiméricos"). Téngase en cuenta además que todos estos formatos pueden incluir variantes de adición en la región Fc, como se analiza más detalladamente a continuación, incluyendo las variantes de "ablación" o "inactivación" (Figura 7), variantes de Fc para alterar la unión de FcγR (FcγRIIb, FcγRIIIa, etc.), variantes de Fc para alterar la unión al receptor FcRn, etc. La Figura 2A muestra un formato scFv-Fc dual, que, como para todos los formatos de heterodimerización en la presente memoria, puede incluir variantes de heterodimerización tales como variantes de pl, botones en ojalos (KIH, también referidas en la presente memoria como variantes estéricas o variantes "sesgadas"), pares de carga (un subconjunto de variantes estéricas), variantes isostéricas y SEEDbody ("dominio diseñado mediante ingeniería genética por intercambio de hebras"); véanse Klein et al., MAb 4:6 653-663 (2012) y Davis et al., Protein Eng Des Sel 2010 23:195-202) que se basan en el hecho de que los dominios CH3 de IgG e IgA humanas no se unen entre sí. La Figura 2B representa una IgG biespecífica, nuevamente con la opción de una variedad de variantes de heterodimerización. La Figura 2C representa la versión "armada" de DVD-Ig que utiliza dos dominios pesados variables y ligeros variables diferentes. La Figura 2D es similar, excepto que en lugar de un "brazo vacío", las cadenas pesadas y ligeras variables están en cadenas pesadas opuestas. La Figura 2E se denomina generalmente "mAb-Fv". La Figura 2F representa un formato multi-scFv; como apreciarán los expertos en la técnica, de manera

similar a los formatos "A, B, C, D" discutidos en la presente memoria, puede haber cualquier número de scFv asociados (o, de hecho, cualquier otro ligando o funcionalidad de unión). Por lo tanto, la Figura 2F podría tener 1, 2, 3 o 4 scFv (p. ej., para moléculas biespecíficas, el scFv podría ser "cis" o "trans", o ambos en un "extremo" de la molécula). La Figura 2G representa un FabFc heterodimérico estando formado el Fab por dos cadenas pesadas diferentes, una que contiene secuencias Fab de cadena pesada y la otra que contiene secuencias Fab de cadena ligera. La Figura 2H representa el "Fab-Fc de un brazo", donde una cadena pesada comprende el Fab. La Figura 2I representa un "scFv-Fc de un brazo", en donde un Fc de cadena pesada comprende un scFv y la otra cadena pesada está "vacía". La Figura 2J muestra un scFv-CH3, en donde solamente se utilizan regiones CH3 de cadena pesada, cada una con su propio scFv. La Figura 2K representa un mAb-scFv, en donde un extremo de la molécula se relaciona con un antígeno de manera bivalente utilizando una vinculación monovalente utilizando un scFv de una de las cadenas pesadas. La Figura 2L representa la misma estructura, excepto que ambas cadenas pesadas comprenden un scFv adicional, que se puede unir al mismo antígeno o antígenos diferentes. La Figura 2M muestra la estructura "CrossMab", donde el problema de la formación de múltiplex debido a dos cadenas ligeras diferentes se aborda cambiando secuencias en la porción Fab. La Figura 2N representa un scFv, la Figura 2O es un "BiTE" o scFv-scFv unido por un conector como se señala en la presente memoria, la Figura 2P representa un DART, la Figura 2Q representa un TandAb y la Figura 2R muestra un diacuerpo. Las Figuras 2S, 2T y 2U representan formatos de armazones alternativos adicionales que encuentran uso en la presente invención.

La Figura 3 representa una serie de variantes de heterodimerización adecuadas, que incluyen variantes sesgadas/estéricas, variantes isostéricas, variantes de pl, variantes KIH, etc. para su uso en las proteínas heterodiméricas de la invención. Como para todas las estructuras heterodiméricas de la presente memoria, cada conjunto de estas variantes de heterodimerización se puede combinar, opcional e independientemente y en cualquier combinación en cualquier armazón heterodimérico. Las variantes al final de la lista de monómeros 1 son variantes de pl isostéricas, que generalmente no se utilizan en pares o conjuntos. En este caso, un monómero está diseñado mediante ingeniería genética para aumentar o disminuir el pl sin alterar el otro monómero. Por lo tanto, aunque se representa en la lista de "monómeros 1", estos se pueden incorporar al monómero apropiado, preservando la "cualidad de la hebra". Es decir, lo que es importante es que la "cualidad de la hebra" de los pares de monómeros permanezca intacta, aunque las variantes enumeradas como variantes de "monómero 1" en la lista estérica se pueden cruzar con las variantes de "monómero 2" en la lista de pl. Es decir, cualquier conjunto se puede combinar con cualquier otro, independientemente de la lista de "monómeros" a la que esté asociado (como se analiza más detalladamente a continuación, en el caso en que los cambios en el pl se utilicen para purificar las proteínas heterodiméricas, la "cualidad de la hebra relacionada con el pl" también se conserva; por ejemplo, si hay variantes sesgadas que alteran la carga, se combinan con las variantes de pl en la hebra correcta; las variantes sesgadas que dan como resultado aumentos en el pl se añaden al monómero que tiene variantes con aumento de pl, etc. Esto es similar a la adición de conectores de scFv cargados, en ese caso, como se describe más completamente en la presente memoria, el conector de scFv cargado correctamente se añade al monómero correcto para preservar la diferencia de pl. Además, cada par de variantes de aminoácidos (o cuando se está diseñando por ingeniería genética un solo monómero) se puede incluir o excluir opcional e independientemente de cualquier proteína heterodimérica, así como se puede combinar opcional e independientemente.

Las Figuras 4A, 4B y 4C representan un subconjunto de variantes de heterodimerización de la Figura 3 que encuentran un uso particular en la invención.

La Figura 5 representa un subconjunto de variantes de heterodimerización de la Figura 3.

La Figura 6 representa una lista de regiones constantes de anticuerpos variantes isotópicas e isostéricas y sus respectivas sustituciones. pl₋(-) indica variantes de pl más bajos, mientras que pl₊(+) indica variantes de pl más altos. Estas se pueden combinar opcional e independientemente con otras variantes de heterodimerización de la invención.

La Figura 7 representa una serie de variantes por modificación genética para inactivar la expresión de un gen "knock out" ("KO") adecuadas para reducir la unión a algunos o todos los receptores FcγR. Como es cierto para muchas, si no todas, las variantes de la presente memoria, estas variantes KO se pueden combinar de forma independiente y opcional, tanto dentro del conjunto descrito en la Figura 35 como con cualquier variante de heterodimerización señalada en la presente memoria, incluyendo las variantes estéricas y de pl. Por ejemplo, E233P/L234V/L235A/G236del se puede combinar con cualquier otra variante simple o doble de la lista. Además, aunque se prefiere en algunas realizaciones que ambos monómeros contengan las mismas variantes KO, es posible combinar diferentes variantes KO en diferentes monómeros, así como tener solo un monómero que comprenda las variantes KO. También se hace referencia a las Figuras y Leyendas del documento USSN 61/913.870, todo lo cual se incorpora expresamente como referencia en su totalidad en lo que se refiere a variantes por modificación genética para inactivar la expresión de un gen o por "ablación".

La Figura 8 representa una serie de disulfuros modificados genéticamente con scFv anti-CD3.

La Figura 9 representa una serie de conectores de scFv cargados que encuentran uso para aumentar o disminuir el pl de proteínas heterodiméricas que utilizan uno o más scFv como componente. Un único conector de scFv de la técnica anterior con una sola carga se denomina "Whitlow", de Whitlow et al., Protein Engineering 6(8):989-995

(1993). Cabe señalar que este conector se utilizó para reducir la agregación y mejorar la estabilidad proteolítica en los scFv.

Las Figuras 10A y 10B son una lista adicional de posibles variantes de heterodimerización para su uso en la presente invención, incluyendo las variantes isotópicas.

La Figura 11 representa una matriz de posibles combinaciones de formatos de heterodimerización, variantes de heterodimerización (separadas en variantes de pl y variantes estéricas (que incluyen variantes de pares de carga), variantes Fc, variantes FcRn y combinaciones. La leyenda A son variantes de FcRn adecuadas: 434A, 434S, 428L, 308F, 259I, 428L/434S, 259I/308F, 436I/428L, 436I o V/434S, 436V/428L, 252Y, 252Y/254T/256E y 259I/308F/428L. Es decir, el formato Triple F de la Figura 1B puede tener cualquiera de estas variantes de FcRn en una o ambas secuencias de monómeros. Para mayor claridad, dado que cada cadena pesada es diferente, las variantes de FcRn (así como las variantes de Fc) pueden residir en uno o ambos monómeros. La leyenda B son variantes de Fc adecuadas: 236A, 239D, 239E, 332E, 332D, 239D/332E, 267D, 267E, 328F, 267E/328F, 236A/332E, 239D/332E/330Y, 239D, 332E/330L, 236R, 328R, 236R/328R, 236R/267E, 243L, 298A y 299T. (Cabe señalar que las variantes de Fc adecuadas adicionales se encuentran en la Figura 41 del documento US 2006/0024298, cuya figura y leyenda se incorporan como referencia en su totalidad). En algunos casos, como se describe en la presente memoria, se utilizan variantes por modificación genética para inactivar la expresión de un gen o de "ablación", tal como se representa en la Figura 7, y se incluyen en la definición de variantes de Fc. En cuanto a las variantes de FcRn, las variantes de Fc pueden residir en cualquiera de las hebras. La leyenda C son variantes de pl adecuadas, y éstas, por brevedad, se importan de las Figuras 3 y 12, nuevamente con el entendimiento de que existe una "cualidad de la hebra" para las variantes de pl. La leyenda D son variantes estéricas adecuadas (incluyendo las variantes de par de carga); nuevamente, para mayor brevedad, se importan de las Figuras 3 y 12, nuevamente con el entendimiento de que existe una "cualidad de la hebra" para las variantes estéricas. La leyenda E refleja las siguientes combinaciones posibles, nuevamente, combinándose de forma independiente y opcional cada variante a partir de la leyenda de origen apropiada: 1) variantes de pl más variantes de FcRn; 2) variantes de pl más variantes de Fc; 3) variantes de pl más variantes de FcRn más variantes de Fc; 4) variantes estéricas más variantes de FcRn; 5) variantes estéricas más variantes de Fc; 6) variantes estéricas más variantes de FcRn más variantes de Fc; 7) variantes de pl más variantes estéricas más variantes de FcRn; 8) variantes de pl más variantes estéricas más variantes de Fc; 9) variantes de pl más variantes estéricas más variantes de FcRn más variantes de Fc; y 10) variantes de pl más variantes estéricas. Cabe señalar que cualquiera o todas estas combinaciones pueden incluir o excluir opcionalmente las variantes por modificación genética para inactivar la expresión de un gen/por ablación en uno o ambos monómeros.

Las figuras 12A a 12J representan pares de variantes de heterodimerización adicionales.

Secuencias específicas de las invenciones

La Figura 13 representa las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de tipo salvaje utilizadas en la invención y la fusión IgG1/G2.

Las Figuras 14A a 14YY representan las secuencias de aminoácidos de los scFv variantes anti-CD3 humanizados con una estabilidad optimizada, secuencias pesadas variables y ligeras variables. (Cabe señalar también que la primera secuencia es la versión etiquetada con histidina para facilitar la purificación). Las CDR están subrayadas. Se debe entender que la mayor estabilidad de las cadenas variables optimizadas y ligeras optimizadas (así como las cadenas de scFv) se puede atribuir a las regiones marco así como a las CDR. Por lo tanto, se debe entender que la descripción de la región variable completa incluye la descripción de las regiones marco, aunque no estén numeradas por separado. Además, los conectores de scFv se muestran en color gris. Cada conector de scFv se puede reemplazar por un conector de scFv cargado como se señala en la Figura 5. Es decir, cualquier conector de scFv cargado, ya sea positivo o negativo, incluyendo los representados en la Figura 5, puede ser sustituido por la región resaltada en las Figuras 3A a 3YY.

Las Figuras 15A a 15I representan una recopilación de todas las secuencias vHCDR1-3 y vLCDR1-3 de CD3 útiles en la presente invención. Las secuencias de las CDR consenso se muestran al final de la Figura. La Figura 6 representa

La Figura 16 muestra la secuencia de XENP13790, que es XENP12912 (scFv para CD3 + disulfuro) con la adición de un conector cargado.

Figuras 17A, 17B y 17C. La Figura 17A representa dos realizaciones diferentes de Triple F. Las Figuras 17B y 17C muestran las secuencias de la realización Triple F de la Figura 17A.

La Figura 18 representa las secuencias de una realización preferida de la invención. Las regiones variables están subrayadas y el conector de scFv cargado está en color gris.

Figuras 19A y 19B. Tf y cambio en la Tf para scFv variantes anti-CD 19 humanizados con estabilidad optimizada. La numeración de aminoácidos es la numeración de Kabat. La Figura 19A determinada por DSF (Fluorimetría de Barrido Diferencial) de scFv variantes anti-CD 19 humanizados con estabilidad optimizada realizada a una

concentración de 0,2 mg/ml y la Figura 19B realizada a 0,4 mg/ml.

Figuras 20A - 20K. Secuencias de aminoácidos de scFv anti-CD19 humanizado con estabilidad optimizada, secuencias pesadas variables y ligeras variables. (Cabe destacar también que la primera secuencia es la versión etiquetada con histidina para facilitar la purificación). Se debe entender que la mayor estabilidad de la variable optimizada y las cadenas ligeras optimizadas (así como las cadenas de scFv) se puede atribuir a las regiones marco así como a las CDR. Por lo tanto, se debe entender que la descripción de la región variable completa incluye la descripción de las regiones marco, aunque no están numeradas por separado.

Figura 21. Representa regiones Fv anti-CD19 estabilizadas.

Las Figuras 22A y 22B representan construcciones de scFv dual (p. ej., como se muestra en la Figura 1M).

Las Figuras 23A y 23B representan construcciones de "abridor de botella" (p. ej., como se muestra en la Figura 1B).

Las Figuras 24A - 24K muestran secuencias adicionales de la invención que incluyen variantes de heterodimerización isostéricas.

Materiales de datos

Figura 25. Regiones variables anti-CD 19 estabilizadas - unión competitiva con IgG1 anti-CD 19 marcada @ 1 µg/mL.

La Figura 26 muestra la caracterización y comparación de un formato scFv-Fc dual, un par anti-CD3/anti-CD19, con el formato "BiTE", utilizando los mismos scFv pero sin la región Fc. Como se muestra, el scFv-Fc dual es menos potente que el formato BiTE, pero la adición de la región Fc aumenta la semivida en ratones 10 veces.

La Figura 27 representa que las porciones de scFv reaccionan cada una de forma cruzada con antígenos de mono cinomolgo en una prueba RTCC. Es decir, la diferencia de potencia entre los formatos (scFv-Fc dual frente a BiTE) se traslada a monos cinomolgos.

La Figura 28 muestra que la diferencia de la semivida también se traslada a monos cinomolgos como entre los dos formatos. El anticuerpo scFv-Fc dual se utilizó a tres concentraciones diferentes como se muestra.

La Figura 29 representa la proyección de la farmacodinámica en monos, con la duración de la concentración en suero cuando más que la CE50 es mayor para el formato scFv-Fc dual que para BiTE, a las 2-3 semanas frente a 2-3 días.

La Figura 30 muestra la destrucción exhaustiva y prolongada de células B con el formato biespecífico scFv-Fc dual. La PK más prolongada de este formato permite un agotamiento prolongado de células B hasta 14 días.

La Figura 31 representa el diseño mediante ingeniería genética de la estabilidad de las porciones scFv-Fc scFv anti-CD3/anti-CD19. Al identificar y reemplazar aminoácidos raros, identificar y reemplazar aminoácidos con residuos de contacto inusuales, el diseño mediante ingeniería genética del conector y la conversión a una orientación VL-VH, se logró una estabilidad sustancialmente mayor.

La Figura 32 representa la PK mejorada en ratones como resultado de la estabilización, que dio como resultado una duplicación de la semivida en ratones para la estabilización anti-CD 19.

La Figura 33 muestra la producción y purificación del "triple F" o "abridor de botella" (o como se menciona en algunas de las Figuras, Fab-scFv-Fc).

La Figura 34 muestra la caracterización del formato triple F anti-CD 19/anti-CD3, que muestra una citotoxicidad picomolar con una unión monovalente solamente a los antígenos diana.

La Figura 35 muestra la mejora en la PK en ratones que resulta de reemplazar un scFv de un scFv-Fc dual por un Fab. Reemplazando el scFv anti-CD 19 por un Fab se duplica la semivida en ratones BL/6 de 3 a 6 días.

La Figura 36 muestra el esquema para la "plataforma enchufar, conectar y usar" para el formato triple F. Un Fab de cualquier mAb existente se puede combinar con el formato biespecífico scFv-Fc anti-CD3.

Las Figuras 37A y 37B representan la caracterización de una combinación "enchufar, conectar y usar" de anticuerpos existentes con el formato triple F. La Figura 41A muestra un Fab anti-CD38 con el scFv anti-CD3 en el formato triple F, y la Figura 41B muestra la combinación Her2/CD3.

La Figura 38 representa el notable "sesgo" hacia la heterodimerización utilizando variantes de la invención. La heterodimerización de más de 95% se logró utilizando un monómero con L368E/K370T y el otro con S364K en comparación con la misma molécula sin las variantes de Fc.

La Figura 39 muestra el agotamiento de las células B en los ganglios linfáticos y el bazo del mono cinomolgo

utilizando el formato scFv dual en comparación con el formato BiTE.

Figura 40. Lista de bevacizumab, solo Fc y heterodímeros anti-CD 19xCD3 que contienen sustituciones relacionadas con el pI isostéricas, se indican los valores de pI de cada especie de proteína esperada.

Figura 41. Cromatografía de intercambio catiónico que muestra la purificación de las especies de heterodímeros de bevacizumab que contienen regiones constantes modificadas por ingeniería genética isostéricas.

Figura 42. Cromatografía de intercambio catiónico que muestra la purificación de las especies de heterodímeros de variantes de solo Fc que contienen regiones constantes modificadas por ingeniería genética isostéricas.

Figura 43. Cromatografía de intercambio catiónico que muestra la purificación de las especies heterodímeras de un anticuerpo biespecífico anti-CD19xCD3 que contiene regiones constantes modificadas por ingeniería genética isostéricas. También se muestra un gel IEF de material purificado de proteína A, así como el heterodímero aislado biespecífico.

Figura 44. Lista de bevacizumab y variantes de solo Fc que contienen sustituciones relacionadas con pI isostéricas, así como valores de Tf obtenidos de DSF.

Figura 45. Lista de scFv anti-CD3 y anti-CD19 que contienen conectores cargados positiva y negativamente. También se muestran los valores de Tf de DSF.

Figura 46. Ejemplo de cromatogramas SEC de scFv purificados con conectores cargados positivamente.

Figura 47. Unión directa de scFv anti-CD3 que contienen conectores cargados positivamente que se unen a células T CD4+ (izquierda) o células CD20+ de PBMC (para verificar la unión no específica; derecha).

Figura 48. Unión directa de scFv anti-CD3 que contienen conectores cargados positivamente que se unen a células CD20+ de PBMC (izquierda) o células 293E (derecha).

Figura 49. Ejemplo de purificación de intercambio catiónico de XENP13124, que es un anticuerpo biespecífico de formato Fab-scFv-Fc dirigido a CD19 y CD3. El scFv anti-CD3 contiene el conector cargado positivamente (GKPGS)4 para permitir la purificación.

Figura 50. Ejemplo de cromatogramas SEC de anticuerpos biespecíficos de formato Fab-scFv-Fc purificados dirigidos a CD 19 y CD3 incubados a diversas concentraciones. XENP13121 (izquierda) contiene el conector convencional (GGGGS)4 mientras que XENP13124 (derecha) contiene el conector cargado (GKPGS)4. El conector cargado tiene la propiedad inesperada de disminuir la cantidad de agregados de elevado peso molecular presentes.

Figura 51. Ensayo de RTCC con PBMC y anticuerpos anti-CD 19xCD3 biespecíficos de formato Fab-scFv-Fc que contienen diferentes conectores de scFv. Los conectores tienen poco impacto en la actividad de RTCC, excepto el conector altamente cargado (GKGKS)3 que tiene una actividad más baja.

Las Figuras 52A a 52O muestran secuencias de la invención que incluyen conectores de scFv cargados, así como los controles correspondientes.

Otros materiales diversos

Figura 53. pI de la bibliografía de los 20 aminoácidos. Cabe señalar que los pI enumerados se calculan como aminoácidos libres; el pI real de cualquier cadena lateral en el contexto de una proteína es diferente y, por lo tanto, esta lista se usa para mostrar tendencias de pI y no números absolutos para los fines de la invención.

Figuras 54A, 54B y 54C. Lista de todas las posibles variantes de pI reducido creadas a partir de sustituciones isotópicas de IgG1-4. Se muestran los valores de pI para las tres especies esperadas, así como el delta pI promedio entre el heterodímero y las dos especies de homodímeros presentes cuando la cadena pesada variante se transfecta con la cadena pesada IgG1-WT.

Figura 55. Lista de todas las posibles variantes con pI aumentado creadas a partir de sustituciones isotópicas de IgG1-4. Se muestran los valores de pI para las tres especies esperadas, así como el delta pI promedio entre el heterodímero y las dos especies de homodímeros presentes cuando la cadena pesada variante se transfecta con la cadena pesada IgG1-WT.

La Figura 56 muestra la secuencia de aminoácidos de las cadenas constantes ligeras CK y CL. Los residuos que contribuyen a un pI más alto (K, R y H) o un pI más bajo (D y E) se resaltan en negrita. Las posiciones preferidas para la modificación para reducir el pI se muestran en color gris. Para armazones que contienen una o más cadenas ligeras, estos cambios se pueden usar para alterar el pI de uno o ambos monómeros, y se pueden combinar de forma independiente y opcional con todas las variantes de la cadena pesada.

Las Figuras 57A a 57E representan las secuencias de varias construcciones de disulfuro; la primera secuencia es la

construcción scFv que incluye la etiqueta His(6) para la conveniencia de la purificación, la segunda secuencia es la construcción scFv sin la etiqueta, la tercera secuencia es la cadena pesada variable sola y la cuarta secuencia es la secuencia ligera variable sola. Las CDR están subrayadas.

Descripción detallada de la invención

5 Las Figuras 66 a 80 del documento WO/2013/055809, se refieren a las secuencias y las leyendas adjuntas a las Figuras 2 a 111 y su leyenda adjunta del documento USSN 13/648.951.

I. Descripción general de las proteínas de heterodimerización

10 La presente invención se refiere a nuevas construcciones como se definen en las reivindicaciones, para proporcionar proteínas heterodiméricas que permiten la unión a más de un antígeno o ligando, p. ej. para permitir la unión multiespecífica. Las construcciones de proteínas heterodiméricas se basan en la naturaleza de autoensamblaje de los dos dominios Fc de las cadenas pesadas de anticuerpos, p. ej. dos "monómeros" que se ensamblan en un "dímero". Las proteínas heterodiméricas se elaboran alterando la secuencia de aminoácidos de cada monómero como se describe más detalladamente a continuación. Por lo tanto, la presente descripción se refiere generalmente a la creación de proteínas heterodiméricas que incluyen anticuerpos, que pueden vincular conjuntamente antígenos de varias maneras, basándose en variantes de aminoácidos en las regiones constantes que son diferentes en cada cadena para promover la formación heterodimérica y/o facilitar la purificación de heterodímeros sobre los homodímeros. Como se analiza más detalladamente a continuación, las proteínas heterodiméricas pueden ser variantes de anticuerpos o estar basadas en proteínas de fusión de Fc. En general, los anticuerpos heterodiméricos son el foco de la discusión, pero como apreciarán los expertos en la técnica y se describirán más detalladamente a continuación, la discusión se aplica igualmente a las proteínas heterodiméricas que

20 Por lo tanto, la presente descripción proporciona anticuerpos biespecíficos (o, como se discute a continuación, también se pueden preparar anticuerpos trispecíficos o tetraespecíficos). Un problema continuo en las tecnologías de anticuerpos es el deseo de anticuerpos "biespecíficos" (y/o multiespecíficos) que se unan a dos (o más) antígenos diferentes simultáneamente, en general, permitiendo que los diferentes antígenos se aproximen y den como resultado nuevas funcionalidades y nuevas terapias. En general, estos anticuerpos se producen al incluir genes para cada cadena pesada y ligera en las células anfitrionas. Esto generalmente da como resultado la formación del heterodímero deseado (A-B), así como los dos homodímeros (A-A y B-B). Sin embargo, un obstáculo importante en la formación de anticuerpos multiespecíficos es la dificultad para purificar los anticuerpos heterodiméricos separados de los anticuerpos homodiméricos y/o sesgar la formación del heterodímero sobre la formación de los homodímeros.

30 Existen varios mecanismos que se pueden utilizar para generar los heterodímeros de la presente invención. Además, como apreciarán los expertos en la técnica, estos mecanismos se pueden combinar para garantizar una alta heterodimerización. Por lo tanto, las variantes de aminoácidos que conducen a la producción de heterodímeros se denominan "variantes de heterodimerización". Como se discute a continuación, las variantes de heterodimerización pueden incluir variantes estéricas (p. ej., los "botones y ojales" o las variantes "sesgadas" descritas a continuación y las variantes de "pares de carga" descritas a continuación), así como las "variantes de pl", que permiten la purificación de homodímeros separados de los heterodímeros.

40 En general, en la técnica se hace referencia a un mecanismo como "botones y ojales" ("KIH") o, a veces, en la presente memoria como variantes "sesgadas", que se refiere a la modificación mediante ingeniería genética de aminoácidos que crea influencias estéricas para favorecer la formación heterodimérica y desfavorecer la formación homodimérica que también se puede utilizar opcionalmente; esto a veces se denomina "botones y ojales"; como se describe en el documento USSN 61/596.846 y USSN 12/875.0015, Ridgway et al., Protein Engineering 9(7):617 (1996); Atwell et al., J. Mol. Biol. 1997 270:26; Patente de Estados Unidos Núm. 8.216.805, US 2012/0149876. Las Figuras identifican varios pares de "monómero A - monómero B" que incluyen sustituciones de aminoácidos "botones y ojales". Además, como describen Merchant et al., en Nature Biotech. 16:677 (1998), estas mutaciones de "botones y ojales" se pueden combinar con enlaces disulfuro para sesgar la formación hacia la heterodimerización.

50 Un mecanismo adicional que se utiliza en la generación de heterodímeros a veces se denomina "orientación por interacción electrostática" o "pares de carga" como describen Gunasekaran et al., en J. Biol. Chem 285(25):19637 (2010). En ocasiones, esto se denomina "pares de carga". En esta realización, se utilizan las interacciones electrostáticas para sesgar la formación hacia la heterodimerización. Como apreciarán los expertos en la técnica, estas también pueden tener un efecto sobre el pl y, por lo tanto, sobre la purificación, y por lo tanto, en algunos casos también podrían considerarse variantes de pl. Sin embargo, puesto que estas se generaron para forzar la heterodimerización y no se utilizaron como herramientas de purificación, se clasifican como "variantes estéricas". Estas incluyen, pero no se limitan a, D221E/P228E/L368E emparejada con D221R/P228R/K409R (p. ej., estas son "conjuntos correspondientes de monómero) y C220E/P228E/368E emparejada con C220R/E224R/P228R/K409R y otras mostradas en las Figuras.

En la presente descripción en algunas realizaciones, las variantes de pl se utilizan para alterar el pl de uno o ambos los monómeros y permitir así la purificación isoeléctrica de proteínas diméricas A-A, A-B y B-B.

Existen varios mecanismos básicos que pueden conducir a la facilidad de purificación de proteínas heterodiméricas; uno se basa en el uso de variantes de pl, de modo que cada monómero tiene un pl diferente, lo que permite la purificación isoelectrica de proteínas diméricas A-A, A-B y B-B. Alternativamente, algunos formatos de armazones, tales como el formato "triple F", también permiten la separación en función del tamaño. Como se detalla más adelante, también es posible "sesgar" la formación de heterodímeros sobre la de homodímeros. Por lo tanto, una combinación de variantes de heterodimerización estérica y pl o variantes de par de carga encuentran un uso particular en la invención. Además, como se describe más detalladamente a continuación, los armazones que utilizan los scFv como formato Triple F pueden incluir conectores de scFv cargados (ya sea positivos o negativos), que proporcionan un aumento adicional de pl para fines de purificación. Como apreciarán los expertos en la técnica, algunos formatos Triple F son útiles con conectores de scFv cargados y sin ajustes adicionales de pl, aunque la invención también proporciona el uso de variantes sesgadas con conectores de scFv cargados (y combinaciones de Fc, FcRn y variantes KO).

En la presente descripción que utiliza el pl como mecanismo de separación para permitir la purificación de proteínas heterodiméricas, las variantes de aminoácidos se pueden introducir en uno o ambos polipéptidos monoméricos; es decir, el pl de uno de los monómeros (al que se hace referencia en la presente memoria por simplicidad como "monómero A") se puede modificar mediante ingeniería genética para que esté distante del monómero B, o cambiar el cambio de monómero A y B, aumentando el pl del monómero A y disminuyendo el pl del monómero B. Como se señala más detalladamente a continuación, los cambios de pl de uno o ambos monómeros se pueden realizar eliminando o añadiendo un residuo cargado (p. ej., un aminoácido neutro se reemplaza por un residuo de aminoácido cargado positiva o negativamente, p. ej., glicina a ácido glutámico), cambiando un residuo cargado de positivo o negativo a la carga opuesta (ácido aspártico a lisina) o cambiando un residuo cargado a un residuo neutro (p. ej., pérdida de una carga; lisina a serina). Varias de estas variantes se muestran en las Figuras.

Por consiguiente, en esta descripción se proporciona la creación de un cambio suficiente en el pl en al menos uno de los monómeros de manera que los heterodímeros se puedan separar de los homodímeros. Como apreciarán los expertos en la técnica, y como se discute más adelante, esto se puede realizar utilizando una región constante de cadena pesada de "tipo salvaje" y una región variante que ha sido diseñada para aumentar o disminuir su pl (wt A- +B o wt A- -B), o aumentando una región y disminuyendo la otra región (A+ -B- o A- B+).

Por lo tanto, en general, los componentes de algunas realizaciones son variantes de aminoácidos en las regiones constantes de anticuerpos que están dirigidas a alterar el punto isoelectrico (pl) de al menos uno, si no ambos, de los monómeros de una proteína dimérica para formar "heterodímeros de pl" (cuando la proteína es un anticuerpo, estos se denominan "anticuerpos de pl") incorporando sustituciones de aminoácidos ("variantes de pl" o "sustituciones de pl") en uno o ambos monómeros. Como se muestra en la presente memoria, la separación de los heterodímeros de los dos homodímeros se puede lograr si los pl de los dos monómeros difieren en tan solo 0,1 unidades de pH, encontrando uso en la presente invención 0,2, 0,3, 0,4 y 0,5 o más.

Como apreciarán los expertos en la técnica, el número de variantes de pl que se incluirán en cada uno o ambos monómeros para obtener una buena separación dependerá en parte del pl inicial del scFv y Fab de interés. Es decir, para determinar qué monómero diseñar o en qué "dirección" (p. ej., más positiva o más negativa), se calculan las secuencias de Fv de los dos antígenos diana y se toma una decisión a partir de ahí. Como se sabe en la técnica, diferentes Fv tendrán diferentes pl de inicio que se explotan en la presente invención. En general, como se señala en la presente memoria, los pl están diseñados para dar como resultado una diferencia de pl total de cada monómero de al menos aproximadamente 0,1 log, prefiriéndose de 0,2 a 0,5 como se señala en la presente memoria.

Además, como apreciarán los expertos en la técnica y se señala en la presente memoria, los heterodímeros se pueden separar de los homodímeros en función del tamaño. Por ejemplo, como se muestra en las Figuras 1 y 2, los heterodímeros con dos scFv se pueden separar por los del formato "triple F" y un mAb biespecífico. Esto se puede explotar adicionalmente en la valencia más alta utilizándose sitios de unión de antígeno adicionales. Por ejemplo, como se muestra adicionalmente, un monómero tendrá dos fragmentos Fab y el otro tendrá un scFv, lo que dará como resultado un tamaño diferencial y, por lo tanto, un peso molecular.

Además, como apreciarán los expertos en la técnica y se señala en la presente memoria, el formato que se señala en la presente memoria se puede ampliar para proporcionar también anticuerpos trispecíficos y tetraespecíficos. En esta realización, en algunas variaciones de las que se representan en la Figura 1A, se reconocerá que es posible que algunos antígenos estén unidos divalentemente (p. ej., dos sitios de unión a antígeno a un solo antígeno; por ejemplo, A y B podrían ser parte de una asociación bivalente típica y C y D pueden estar opcionalmente presentes y ser opcionalmente iguales o diferentes). Como se apreciará, se puede utilizar cualquier combinación de Fab y scFv para lograr el resultado y las combinaciones deseadas.

En el caso en el que se utilizan variantes de pl para lograr la heterodimerización, al utilizar las regiones constantes de las cadenas pesadas, se proporciona un enfoque más modular para diseñar y purificar proteínas multiespecíficas, incluidos anticuerpos. Por lo tanto, en algunas realizaciones, las variantes de heterodimerización (incluidas las variantes de heterodimerización sesgada y de purificación) no se incluyen en las regiones variables, de modo que se debe modificar genéticamente cada anticuerpo individual. Además, en algunas realizaciones, la posibilidad de inmunogenicidad resultante de las variantes de pl se reduce significativamente importando variantes de pl de

diferentes isotipos de IgG de modo que el pl se cambie sin introducir inmunogenicidad significativa. Por lo tanto, un problema adicional a resolver es la elucidación de dominios constantes de bajo pl con alto contenido de secuencia humana, p. ej. la minimización o evitación de residuos no humanos en cualquier posición particular.

Un beneficio secundario que se puede producir con esta modificación genética del pl es también la extensión de la semivida en suero y el aumento de la unión de FcRn. Es decir, como se describe en el documento USSN 13/194,904, la reducción del pl de los dominios constantes de anticuerpos (incluidos los que se encuentran en los anticuerpos y las fusiones de Fc) puede conducir a una mayor retención de suero in vivo. Estas variantes de pl para aumentar la semivida en suero también facilitan los cambios de pl para la purificación.

Además, debe tenerse en cuenta que las variantes pl de las variantes de heterodimerización brindan un beneficio adicional para el análisis y el proceso de control de calidad de los anticuerpos biespecíficos, ya que, particularmente en el caso de los anticuerpos CD3, la capacidad de eliminar, minimizar y distinguir cuándo están presentes los homodímeros es significativa. Del mismo modo, la capacidad de probar de forma fiable la reproducibilidad de la producción de proteínas heterodiméricas es importante.

Además de todo o parte de un dominio constante pesado variante, uno o ambos monómeros pueden contener uno o dos compañeros de fusión, de modo que los heterodímeros forman proteínas multivalentes. Como se representa generalmente en las Figuras, y específicamente en la Figura 1A, los compañeros de fusión se representan como A, B, C y D, con todas las combinaciones posibles. En general, A, B, C y D se seleccionan de manera que el heterodímero sea al menos biespecífico o bivalente en su capacidad de interactuar con proteínas adicionales.

Como apreciarán los expertos en la técnica y se analizará más detalladamente a continuación, las proteínas de fusión heterodiméricas de la presente invención pueden adoptar una amplia variedad de configuraciones, como se representa generalmente en las Figuras 1 y 2. Algunas figuras representan configuraciones de "extremo único", donde hay un tipo de especificidad en un "brazo" de la molécula y una especificidad diferente en el otro "brazo". Otras figuras representan configuraciones de "doble extremo", donde hay al menos un tipo de especificidad en la "parte superior" de la molécula y una o más especificidades diferentes en la "parte inferior" de la molécula. Además, como se muestra, estas dos configuraciones se pueden combinar, donde puede haber especificidades triples o cuádruples en función de la combinación particular. Por lo tanto, la presente descripción está dirigida a nuevas composiciones de inmunoglobulina que vinculan conjuntamente al menos un primer y un segundo antígeno. El primer y segundo antígenos de la descripción se denominan en la presente memoria antígeno-1 y antígeno-2 respectivamente.

Un armazón heterodimérico que encuentra un uso particular en la presente invención es el formato de armazón "triple F" o "abridor de botellas". En esta realización, una cadena pesada del anticuerpo contiene un Fv de cadena sencilla ("scFv", como se define a continuación) y la otra cadena pesada es un formato FAb "regular", que comprende una cadena pesada variable y una cadena ligera. Esta estructura a veces se denomina en la presente memoria formato "triple F" (scFv-FAb-Fc) o el formato de "abridor de botellas", debido a una similitud visual aproximada con un abridor de botellas (véase la Figura 1B). Las dos cadenas se unen mediante el uso de variantes de aminoácidos en las regiones constantes (p. ej., el dominio Fc y/o la región bisagra) que promueven la formación de anticuerpos heterodiméricos como se describe más detalladamente a continuación.

Existen varias ventajas distintas para el presente formato "triple F". Como se sabe en la técnica, los análogos de anticuerpos que dependen de dos construcciones de scFv a menudo tienen problemas de estabilidad y agregación, que pueden aliviarse en la presente invención mediante la adición de un emparejamiento de cadena ligera y pesada "regular". Además, a diferencia de los formatos que se basan en dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras, no hay problema con el emparejamiento incorrecto de cadenas pesadas y ligeras (p. ej., emparejamiento de la pesada 1 con la ligera 2, etc.).

Además de todo o parte de un dominio constante pesado variante, uno o ambos monómeros pueden contener uno o dos compañeros de fusión, de modo que los heterodímeros forman proteínas multivalentes. Como se muestra generalmente en la Figura 64 del documento USSN 13/648.951, con su leyenda adjunta, los compañeros de fusión se representan como A, B, C y D, con todas las combinaciones posibles. En general, A, B, C y D se seleccionan de manera que el heterodímero sea al menos biespecífico o bivalente en su capacidad de interactuar con proteínas adicionales. En el contexto del presente formato "triple F", generalmente A y B son un scFv y un Fv (como se apreciará, cualquiera de los monómeros puede contener el scFv y el otro el Fv/Fab) y a continuación opcionalmente uno o dos compañeros de fusión adicionales.

Además, como se señala en la presente memoria, se pueden introducir variantes de aminoácidos adicionales en los anticuerpos biespecíficos de la invención, para añadir funcionalidades adicionales. Por ejemplo, se pueden añadir cambios de aminoácidos dentro de la región Fc (ya sea a un monómero o a ambos) para facilitar el aumento de ADCC o CDC (p. ej., la unión alterada a los receptores de Fcγ); para permitir o aumentar el rendimiento de la adición de toxinas y fármacos (p. ej., para ADC), así como para aumentar la unión a FcRn y/o aumentar la semivida en suero de las moléculas resultantes. Como se describe adicionalmente en la presente memoria y como apreciarán los expertos en la técnica, cualquiera y todas las variantes descritas en la presente memoria se pueden combinar opcional e independientemente con otras variantes.

De manera similar, otra categoría de variantes funcionales son las "variantes de ablación de Fcγ" o "variantes por modificación genética para inactivar la expresión de Fc (FcKO o KO). En estas realizaciones, para algunas aplicaciones terapéuticas, es deseable reducir o eliminar la unión normal del dominio Fc a uno o más o todos los receptores de Fcγ (p. ej., FcγR1, FcγRIIa, FcγRIIb, FcγRIIIa, etc.) para evitar mecanismos de acción adicionales, es decir, en muchas realizaciones, particularmente en el uso de anticuerpos biespecíficos que se unen a CD3 monovalentemente y un antígeno tumoral en el otro (p. ej., CD 19, her2/neu, etc.), generalmente es deseable eliminar la unión de FcγRIIIa para eliminar o reducir significativamente la actividad ADCC.

Definiciones

Para que la solicitud pueda entenderse más completamente, a continuación se exponen varias definiciones. Se pretende que tales definiciones abarquen los equivalentes gramaticales.

Por "ablación" se entiende en la presente memoria una disminución o eliminación de la actividad. Así, por ejemplo, "ablación de la unión de FcγR" significa que la variante de aminoácidos de la región Fc tiene menos de 50% de unión inicial en comparación con una región Fc que no contiene la variante específica, prefiriéndose menos de 70-80-90-95-98% de pérdida de la actividad, y en general, estando la actividad por debajo del nivel de unión detectable en un ensayo Biacore. Tienen un uso particular en la ablación de la unión de FcγR los mostrados en la Figura 7.

Por "ADCC" o "citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos", como se emplea en la presente memoria, se entiende la reacción mediada por células en donde las células citotóxicas no específicas que expresan los FcγR reconocen el anticuerpo unido sobre una célula diana y posteriormente provocan la lisis de la célula diana. La ADCC se correlaciona con la unión a FcγRIIIa; el aumento de la unión a FcγRIIIa conduce a un aumento en la actividad ADCC.

Por "ADCP" o fagocitosis mediada por células dependiente de anticuerpos, como se emplea en la presente memoria, se entiende la reacción mediada por células en donde las células citotóxicas no específicas que expresan los FcγR reconocen el anticuerpo unido en una célula diana y posteriormente causan la fagocitosis de la célula diana.

Por "modificación" en la presente memoria se entiende una sustitución, inserción y/o delección de aminoácidos en una secuencia de polipéptidos o una alteración en un radical químicamente unido a una proteína. Por ejemplo, una modificación puede ser una estructura alterada de carbohidratos o PEG anclada a una proteína. Por "modificación de aminoácidos" en la presente memoria se entiende una sustitución, inserción y/o delección de aminoácidos en una secuencia de polipéptidos. Para mayor claridad, a menos que se indique lo contrario, la modificación de aminoácidos es siempre un aminoácido codificado por ADN, p. ej. los 20 aminoácidos que tienen codones en el ADN y el ARN.

Por "sustitución de aminoácidos" o "sustitución" en la presente memoria se entiende el reemplazo de un aminoácido en una posición particular en una secuencia de polipéptidos parental por un aminoácido diferente. En particular, en algunas realizaciones, la sustitución es por un aminoácido que no se produce naturalmente en la posición particular, o que no se produce naturalmente dentro del organismo o en ningún organismo. Por ejemplo, la sustitución E272Y se refiere a un polipéptido variante, en este caso una variante de Fc, en la que el ácido glutámico en la posición 272 se reemplaza con tirosina. Para mayor claridad, una proteína que ha sido modificada genéticamente para cambiar la secuencia codificante de ácido nucleico pero no cambiar el aminoácido inicial (por ejemplo, el intercambio de CGG (que codifica arginina) por CGA (que todavía codifica arginina) para aumentar los niveles de expresión del organismo anfitrión) no es un "sustitución de aminoácidos"; es decir, a pesar de la creación de un nuevo gen que codifica la misma proteína, si la proteína tiene el mismo aminoácido en la posición particular con la que comenzó, no es una sustitución de aminoácidos.

Por "inserción de aminoácidos" o "inserción" como se emplea en la presente memoria se entiende la adición de una secuencia de aminoácidos en una posición particular en una secuencia de polipéptidos parental. Por ejemplo, -233E o 233E designa una inserción de ácido glutámico después de la posición 233 y antes de la posición 234. Además, -233ADE o A233ADE designa una inserción de AlaAspGlu después de la posición 233 y antes de la posición 234.

Por "delección de aminoácidos" o "delección", como se emplea en la presente memoria, se entiende la eliminación de una secuencia de aminoácidos en una posición particular en una secuencia de polipéptidos parental. Por ejemplo, E233- o E233# o E233() designan una delección de ácido glutámico en la posición 233. Además, EDA233- o EDA233# designan una delección de la secuencia GluAspAla que comienza en la posición 233.

Por "proteína variante" o "variante de proteína", o "variante", como se emplea en la presente memoria, se entiende una proteína que difiere de una proteína parental en virtud de al menos una modificación de aminoácidos. La variante de proteína se puede referir a la propia proteína, una composición que comprende la proteína o la secuencia de aminoácidos que la codifica. Preferiblemente, la variante de proteína tiene al menos una modificación de aminoácidos en comparación con la proteína parental, p. ej. de aproximadamente una a aproximadamente setenta modificaciones de aminoácidos, y preferiblemente de aproximadamente una a aproximadamente cinco modificaciones de aminoácidos en comparación con la parental. Como se describe a continuación, en algunas realizaciones, el polipéptido parental, por ejemplo un polipéptido parental de Fc, es una secuencia de tipo salvaje humana, tal como la región Fc de IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4, aunque las secuencias humanas con variantes también pueden servir como "polipéptidos parentales", por ejemplo, el híbrido IgG1/2 de la Figura 13. La secuencia variante

de proteína de la presente memoria poseerá preferiblemente al menos aproximadamente 80% de identidad con una secuencia de proteína parental, y lo más preferiblemente al menos aproximadamente 90% de identidad, más preferiblemente al menos aproximadamente 95-98-99% de identidad. La proteína variante se puede referir a la propia proteína variante, a las composiciones que comprenden la variante de la proteína o a la secuencia de ADN que la codifica. Por consiguiente, por "variante de anticuerpo" o "anticuerpo variante" como se emplea en la presente memoria se entiende un anticuerpo que difiere de un anticuerpo parental en virtud de al menos una modificación de aminoácidos, por "variante de IgG" o "IgG variante" como se emplea en la presente memoria se entiende un anticuerpo que difiere de una IgG parental (de nuevo, en muchos casos, de una secuencia de IgG humana) en virtud de al menos una modificación de aminoácidos, y por "variante de inmunoglobulina" o "inmunoglobulina variante" como se emplea en la presente memoria se entiende una secuencia de inmunoglobulina que difiere de la de una secuencia de inmunoglobulina parental en virtud de al menos una modificación de aminoácidos. Por "variante de Fc" o "Fc variante" como se emplea en la presente memoria se entiende una proteína que comprende una modificación de aminoácidos en un dominio Fc. Las variantes de Fc de la presente invención se definen de acuerdo con las modificaciones de aminoácidos que las componen. Así, por ejemplo, N434S o 434S es una variante de Fc con la sustitución de la serina en la posición 434 con respecto al polipéptido Fc parental, en donde la numeración está de acuerdo con el índice EU. Del mismo modo, M428L/N434S define una variante de Fc con las sustituciones M428L y N434S con respecto al polipéptido Fc parental. La identidad del aminoácido WT puede no estar especificada, en cuyo caso la variante antes mencionada se denomina 428L/434S. Se observa que el orden en el que se proporcionan las sustituciones es arbitrario, es decir, por ejemplo, 428L/434S es la misma variante de Fc que M428L/N434S, y así sucesivamente. Para todas las posiciones discutidas en la presente invención que se relacionan con anticuerpos, a menos que se indique lo contrario, la numeración de la posición de los aminoácidos está de acuerdo con el índice EU. El índice EU o el índice EU como en Kabat o el esquema de numeración de EU se refiere a la numeración del anticuerpo EU (Edelman et al., 1969, Proc Natl Acad Sci USA 63:78-85, incorporada en la presente como referencia). La modificación puede ser una adición, delección o sustitución. Las sustituciones pueden incluir aminoácidos naturales y, en algunos casos, aminoácidos sintéticos. Los ejemplos incluyen la Patente de Estados Unidos Núm. 6.586.207; el documento WO 98/48032; el documento WO 03/073238; el documento US2004-0214988A1; el documento WO 05/35727A2; el documento WO 05/74524A2; J. W. Chin et al., (2002), Journal of the American Chemical Society 124: 9026-9027; J. W. Chin y P. G. Schultz, (2002), ChemBioChem 11:1135-1137; J. W. Chin, et al., (2002), PNAS United States of America 99:11020-11024; y, L. Wang y P. G. Schultz, (2002), Chem. 1-10.

Como se emplea en la presente memoria, "proteína" en la presente memoria significa al menos dos aminoácidos anclados covalentemente, que incluyen proteínas, polipéptidos, oligopéptidos y péptidos. El grupo peptídico puede comprender aminoácidos y enlaces peptídicos naturales, o estructuras peptidomiméticas sintéticas, es decir, "análogos", tales como peptoides (véase Simon et al., PNAS USA 89(20):9367 (1992)). Los aminoácidos pueden ser naturales o sintéticos (p. ej., no un aminoácido codificado por el ADN); como apreciarán los expertos en la técnica. Por ejemplo, homo-fenilalanina, citrulina, ornitina y norleucina se consideran aminoácidos sintéticos para los fines de la invención, y se pueden utilizar aminoácidos configurados tanto D como L (R o S). Las variantes de la presente invención pueden comprender modificaciones que incluyen el uso de aminoácidos sintéticos incorporados utilizando, por ejemplo, las tecnologías desarrolladas por Schultz y colegas, que incluyen, pero sin limitarse a, los métodos descritos por Cropp & Shultz, 2004, Trends Genet. 20(12):625-30, Anderson et al., 2004, Proc Natl Acad Sci USA 101(2):7566-71, Zhang et al., 2003, 303(5656):371-3, y Chin et al., 2003, Science 301 (5635). Además, los polipéptidos pueden incluir derivatización sintética de una o más cadenas laterales o extremos terminales, glicosilación, PEGilación, permutación circular, ciclación, conectores a otras moléculas, fusión a proteínas o dominios de proteínas, y adición de etiquetas o marcadores peptídicos.

Por "residuo", como se emplea en la presente memoria, se entiende una posición en una proteína y su identidad de aminoácidos asociada. Por ejemplo, Asparragina 297 (también conocida como Asn297 o N297) es un residuo en la posición 297 en el anticuerpo humano IgG1.

Por "Fab" o "región Fab", como se emplea en la presente memoria, se entiende el polipéptido que comprende los dominios de inmunoglobulina VH, CH1, VL y CL. Fab se puede referir a esta región de forma aislada, o esta región en el contexto de un anticuerpo completo, un fragmento de anticuerpo o una proteína de fusión con Fab. Por "Fv" o "fragmento Fv" o "región Fv" como se emplea en la presente memoria se entiende un polipéptido que comprende los dominios VL y VH de un solo anticuerpo.

Por "modificación de subclase de IgG" o "modificación de isotipo", como se emplea en la presente memoria, se entiende una modificación de aminoácidos que convierte un aminoácido de un isotipo de IgG en el aminoácido correspondiente en un isotipo de IgG diferente, alineado. Por ejemplo, debido a que IgG1 comprende una tirosina e IgG2 una fenilalanina en la posición EU 296, una sustitución F296Y en IgG2 se considera una modificación de la subclase de IgG.

Por "modificación no natural" como se emplea en la presente memoria se entiende una modificación de aminoácidos que no es isotópica. Por ejemplo, debido a que ninguna de las IgG comprende una serina en la posición 434, la sustitución 434S en IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4 (o sus híbridos) se considera una modificación no natural.

Por "aminoácido" e "identidad de aminoácidos", como se emplea en la presente memoria, se entiende uno de los 20

aminoácidos naturales codificados por ADN y ARN.

Por "función efectora" como se emplea en la presente memoria se entiende un evento bioquímico que resulta de la interacción de una región Fc de anticuerpo con un receptor o ligando Fc. Las funciones efectoras incluyen, sin limitarse a, ADCC, ADCP y CDC.

5 Por "ligando de Fc de IgG", como se emplea en la presente memoria, se entiende una molécula, preferiblemente un polipéptido, de cualquier organismo que se une a la región Fc de un anticuerpo IgG para formar un complejo de Fc/ligando de Fc. Los ligandos de Fc incluyen, pero no se limitan a, FcγRI, FcγRII, FcγRIII, FcRn, C1q, C3, lectina de unión a manano, receptor de manosa, proteína A estafilocócica, proteína G estreptocócica y FcγR viral. Los ligandos de Fc también incluyen homólogos de receptores de Fc (FcRH), que son una familia de receptores de Fc que son
10 homólogos a los FcγR (Davis et al., 2002, Immunological Reviews 190:123-136.). Los ligandos de Fc pueden incluir moléculas no descubiertas que se unen a Fc. Los ligandos de Fc de IgG concretos son FcRn y receptores gamma de Fc. Por "ligando de Fc", como se emplea en la presente memoria, se entiende una molécula, preferiblemente un polipéptido, de cualquier organismo que se une a la región Fc de un anticuerpo para formar un complejo de Fc/ligando de Fc.

15 Por "receptor gamma de Fc", "FcγR" o "FcγgammaR", como se emplea en la presente memoria, se entiende cualquier miembro de la familia de proteínas que se unen a la región Fc del anticuerpo IgG y está codificado por un gen FcγR. En los seres humanos, esta familia incluye, pero no se limita a, FcγRI (CD64), incluidas las isoformas FcγRIa, FcγRIb y FcγRIc; FcγRII (CD32), incluidas las isoformas FcγRIIa (incluidos los alotipos H131 y R131), FcγRIIb (incluidos FcγRIIb-1 y FcγRIIb-2) y FcγRIIc; y FcγRIII (CD16), incluidas las isoformas FcγRIIIa (incluidos los alotipos V158 y F158) y FcγRIIIb (incluidos los alotipos FcγRIIIb-NA1 y FcγRIIIb-NA2) (Jefferis et al., 2002, Immunol Lett 82:57-65, incorporados como referencia en su totalidad), así como cualquier FcγR o isoformas o alotipos de FcγR
20 humanos no descubiertos. Un FcγR puede provenir de cualquier organismo, incluidos, pero sin limitarse a, seres humanos, ratones, ratas, conejos y monos. Los FcγR de ratón incluyen, sin limitarse a, FcγRI (CD64), FcγRII (CD32), FcγRIII (CD16) y FcγRIII-2 (CD16-2), así como cualquier FcγR o isoforma o alotipo de FcγR de ratón no
25 descubierto.

Por "FcRn" o "Receptor de Fc neonatal", como se emplea en la presente memoria, se entiende una proteína que se une a la región Fc del anticuerpo IgG y está codificada al menos en parte por un gen FcRn. El FcRn puede ser de cualquier organismo, incluidos, pero sin limitarse a, seres humanos, ratones, ratas, conejos y monos. Como se sabe en la técnica, la proteína funcional FcRn comprende dos polipéptidos, a menudo denominados cadena pesada y
30 cadena ligera. La cadena ligera es beta-2-microglobulina y la cadena pesada está codificada por el gen FcRn. A menos que se indique lo contrario en la presente memoria, FcRn o una proteína FcRn se refieren al complejo de la cadena pesada de FcRn con beta-2-microglobulina. En la leyenda de la Figura de la Figura 83 se muestra una variedad de variantes de FcRn utilizadas para aumentar la unión al receptor de FcRn y, en algunos casos, para aumentar la semivida en suero.

35 Por "polipéptido parental", como se emplea en la presente memoria, se entiende un polipéptido de partida que se modifica posteriormente para generar una variante. El polipéptido parental puede ser un polipéptido natural, o una versión variante o modificada por ingeniería genética de un polipéptido natural. El polipéptido parental puede referirse al propio polipéptido, composiciones que comprenden el polipéptido parental o la secuencia de aminoácidos que lo codifica. En consecuencia, por "inmunoglobulina parental" como se emplea en la presente memoria se
40 entiende un polipéptido de inmunoglobulina no modificado que se modifica para generar una variante, y por "anticuerpo parental" como se emplea en la presente memoria se entiende un anticuerpo no modificado que se modifica para generar un anticuerpo variante. Cabe señalar que el "anticuerpo parental" incluye anticuerpos comerciales conocidos, producidos recombinantemente, como se señala a continuación.

45 Por "proteína de fusión de Fc" o "inmunoadhesina" en la presente memoria se entiende una proteína que comprende una región Fc, generalmente unida (opcionalmente a través de un radical conector, como se describe en la presente memoria) a una proteína diferente, tal como un radical de unión a una proteína diana, como se describe en la presente memoria. En algunos casos, un monómero de la proteína heterodimérica comprende una cadena pesada de anticuerpo (que incluye un scFv o que incluye adicionalmente una cadena ligera) y el otro monómero es una fusión de Fc, que comprende un dominio Fc variante y un ligando. En algunas realizaciones, estas "proteínas de
50 fusión de medio anticuerpo-media proteína" se denominan "Fusionbodies".

Por "posición" como se emplea en la presente memoria se entiende una ubicación en la secuencia de una proteína. Las posiciones pueden numerarse secuencialmente o de acuerdo con un formato establecido, por ejemplo, el índice EU para la numeración de anticuerpos.

55 Por "antígeno diana" como se emplea en la presente memoria se entiende la molécula que está unida específicamente a la región variable de un anticuerpo dado. Un antígeno diana puede ser una proteína, carbohidrato, lípido u otro compuesto químico. A continuación se describe una gran cantidad de antígenos diana adecuados.

Por "cualidad de la hebra" en el contexto de los monómeros de las proteínas heterodiméricas de la invención en la presente memoria se entiende que, de manera similar a las dos hebras de ADN que "coinciden", se incorporan

variantes de heterodimerización a cada monómero para preservar la capacidad de "coincidir" para formar heterodímeros. Por ejemplo, si algunas variantes de pl se modifican genéticamente para proporcionar el monómero A (p. ej., haciendo que el pl sea más alto), las variantes estéricas que son "pares de carga" que también se pueden utilizar no interfieren en las variantes de pl, p. ej. las variantes de carga que hacen que un pl sea más alto se colocan en la misma "hebra" o "monómero" para preservar ambas funcionalidades.

Por "célula diana", como se emplea en la presente memoria, se entiende una célula que expresa un antígeno diana.

Por "región variable", como se emplea en la presente memoria, se entiende la región de una inmunoglobulina que comprende uno o más dominios de Ig sustancialmente codificados por cualquiera de los genes V κ , V λ y/o V H que forman los loci genéticos de inmunoglobulina de cadena kappa, lambda y pesada, respectivamente.

Por "tipo salvaje o WT" en la presente memoria se entiende una secuencia de aminoácidos o una secuencia de nucleótidos que se encuentran en la naturaleza, incluidas las variaciones alélicas. Una proteína WT tiene una secuencia de aminoácidos o una secuencia de nucleótidos que no se han modificado intencionadamente.

Los anticuerpos de la presente invención son generalmente aislados o recombinantes. "Aislado", cuando se emplea para describir los diversos polipéptidos descritos en la presente memoria, significa un polipéptido que se ha identificado y separado y/o recuperado de una célula o cultivo celular a partir del cual se expresó. Normalmente, se preparará un polipéptido aislado mediante al menos una etapa de purificación. Un "anticuerpo aislado" se refiere a un anticuerpo que está sustancialmente libre de otros anticuerpos que tienen diferentes especificidades antigénicas.

"Unión específica" o "se une específicamente a" o es "específico para" un antígeno o un epítipo concretos significa unión que es mediblemente diferente de una interacción no específica. La unión específica se puede medir, por ejemplo, determinando la unión de una molécula en comparación con la unión de una molécula de control, que generalmente es una molécula de estructura similar que no tiene actividad de unión. Por ejemplo, la unión específica se puede determinar mediante la competición con una molécula de control que es similar a la diana.

La unión específica para un antígeno o un epítipo concretos puede ser exhibida, por ejemplo, por un anticuerpo que tiene una KD para un antígeno o epítipo de al menos aproximadamente 10^{-4} M, al menos aproximadamente 10^{-5} M, al menos aproximadamente 10^{-6} M, al menos aproximadamente 10^{-7} M, al menos aproximadamente 10^{-8} M, al menos aproximadamente 10^{-9} M, alternativamente al menos aproximadamente 10^{-10} M, al menos aproximadamente 10^{-11} M, al menos aproximadamente 10^{-12} M, o mayor, donde KD se refiere a una tasa de disociación de una interacción anticuerpo-antígeno particular. Típicamente, un anticuerpo que se une específicamente a un antígeno tendrá una KD que será 20-, 50-, 100-, 500-, 1.000-, 5.000-, 10.000- o más veces mayor para una molécula de control con respecto al antígeno o epítipo.

Asimismo, la unión específica para un antígeno o un epítipo concretos puede ser exhibida, por ejemplo, por un anticuerpo que tiene una KA o Ka para un antígeno o epítipo de al menos 20-, 50-, 100-, 500-, 1.000-, 5.000-, 10.000- o más veces mayor para el epítipo con respecto a un control, donde KA o Ka se refieren a una tasa de asociación de una interacción anticuerpo-antígeno concreta.

Proteínas Heterodiméricas

La presente invención se refiere a la generación de proteínas de unión multiespecíficas, particularmente biespecíficas, y en particular, anticuerpos multiespecíficos. La presente invención generalmente se basa en el uso de dominios Fc modificados por ingeniería genética o variantes que pueden autoensamblarse en las células de producción para producir proteínas heterodiméricas, y métodos para generar y purificar tales proteínas heterodiméricas.

Anticuerpos

La presente invención se refiere a la generación de anticuerpos multiespecíficos, generalmente anticuerpos terapéuticos. Como se discute a continuación, el término "anticuerpo" se utiliza generalmente. Los anticuerpos que encuentran uso en la presente invención pueden adoptar una serie de formatos como se describe en la presente memoria, que incluyen anticuerpos tradicionales así como derivados de anticuerpos, fragmentos y miméticos, que se describen a continuación. En general, el término "anticuerpo" incluye cualquier polipéptido que incluye al menos un dominio constante, incluidos, pero sin limitarse a, CH1, CH2, CH3 y CL.

Las unidades estructurales de anticuerpos tradicionales típicamente comprenden un tetrámero. Cada tetrámero está compuesto típicamente por dos pares idénticos de cadenas polipeptídicas, teniendo cada par una cadena "ligera" (que tiene típicamente un peso molecular de aproximadamente 25 kDa) y una "pesada" (que tiene típicamente un peso molecular de aproximadamente 50-70 kDa). Las cadenas ligeras humanas se clasifican como cadenas ligeras kappa y lambda. La presente invención se refiere a la clase IgG, que tiene varias subclases, que incluyen, pero sin limitarse a, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4. Por lo tanto, "isotipo" como se emplea en la presente memoria significa cualquiera de las subclases de inmunoglobulinas definidas por las características químicas y antigénicas de sus regiones constantes. Se debe entender que los anticuerpos terapéuticos también pueden comprender híbridos de isotipos y/o subclases. Por ejemplo, como se muestra en la Publicación US 2009/0163699, la presente invención

cubre la modificación genética de pl de híbridos de IgG1/G2.

La porción amino terminal de cada cadena incluye una región variable de aproximadamente 100 a 110 o más aminoácidos principalmente responsables del reconocimiento de antígeno, generalmente referidos en la técnica y en la presente memoria como "dominio Fv" o "región Fv". En la región variable, se reúnen tres bucles para cada uno de los dominios V de la cadena pesada y la cadena ligera para formar un sitio de unión a antígeno. Cada uno de los bucles se denomina región determinante de la complementariedad (en adelante denominada "CDR"), en la que la variación en la secuencia de aminoácidos es más significativa. "Variable" se refiere al hecho de que ciertos segmentos de la región variable difieren ampliamente en la secuencia entre los anticuerpos. La variabilidad dentro de la región variable no se distribuye uniformemente. En cambio, las regiones V consisten en tramos relativamente invariables llamados regiones marco (FR) de 15-30 aminoácidos separados por regiones más cortas de extrema variabilidad llamadas "regiones hipervariables" que tienen cada una 9-15 aminoácidos de longitud o más.

Cada VH y VL se compone de tres regiones hipervariables ("regiones determinantes de la complementariedad", "CDR") y cuatro FR, dispuestas desde el extremo amino al extremo carboxi en el siguiente orden: FR1-CDR1-FR2-CDR2-FR3-CDR3-FR4.

La región hipervariable generalmente abarca residuos de aminoácidos de aproximadamente los residuos de aminoácidos 24-34 (LCDR1; "L" indica cadena ligera), 50-56 (LCDR2) y 89-97 (LCDR3) en la región variable de la cadena ligera y alrededor de aproximadamente 31-35B (HCDR1; "H" indica cadena pesada), 50-65 (HCDR2) y 95-102 (HCDR3) en la región variable de la cadena pesada; Kabat et al., SEQUENCES OF PROTEINS OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5ª ed. Servicio de Salud Pública, Institutos Nacionales de Salud, Bethesda, Maryland (1991)) y/o aquellos residuos que forman un bucle hipervariable (p. ej., residuos 26-32 (LCDR1), 50-52 (LCDR2) y 91-96 (LCDR3) en la región variable de la cadena ligera y 26-32 (HCDR1), 53-55 (HCDR2) y 96-101 (HCDR3) en la región variable de la cadena pesada; Chothia y Lesk (1987) J. Mol. Biol. 196:901-917. Las CDR específicas de la invención se describen a continuación.

A lo largo de la presente memoria descriptiva, el sistema de numeración de Kabat se utiliza generalmente cuando se hace referencia a un residuo en el dominio variable (aproximadamente, los residuos 1-107 de la región variable de la cadena ligera y los residuos 1-113 de la región variable de la cadena pesada) y el sistema de numeración EU para regiones Fc (p. ej., Kabat et al., más arriba (1991)).

Las CDR contribuyen a la formación del sitio de unión al antígeno, o más específicamente, al sitio de unión al epítipo de los anticuerpos. "Epítipo" se refiere a un determinante que interactúa con un sitio de unión a antígeno específico en la región variable de una molécula de anticuerpo conocida como parátipo. Los epítipos son agrupaciones de moléculas tales como aminoácidos o cadenas laterales de azúcar y generalmente tienen características estructurales específicas, así como características de carga específicas. Un solo antígeno puede tener más de un epítipo.

El epítipo puede comprender residuos de aminoácidos directamente implicados en la unión (también denominado componente inmunodominante del epítipo) y otros residuos de aminoácidos, que no están directamente implicados en la unión, tales como los residuos de aminoácidos que están bloqueados realmente por el péptido que se une al antígeno específicamente; en otras palabras, el residuo de aminoácido está dentro de la huella del péptido que se une al antígeno específicamente.

Los epítipos pueden ser conformacionales o lineales. Un epítipo conformacional es producido por aminoácidos espacialmente juxtapuestos de diferentes segmentos de la cadena polipeptídica lineal. Un epítipo lineal es aquel producido por residuos de aminoácidos adyacentes en una cadena polipeptídica. Los epítipos conformacionales y no conformacionales se pueden distinguir debido a que la unión al primero pero no al último se pierde en presencia de disolventes desnaturizantes.

Un epítipo típicamente incluye al menos 3, y más habitualmente, al menos 5 u 8-10 aminoácidos en una conformación espacial única. Los anticuerpos que reconocen el mismo epítipo se pueden verificar en un inmunoensayo simple que muestra la capacidad de un anticuerpo para bloquear la unión de otro anticuerpo a un antígeno diana, por ejemplo, estudios de especificidad de epítipo "binning".

La porción carboxi-terminal de cada cadena define una región constante principalmente responsable de la función efectora. Kabat et al. recolectaron numerosas secuencias primarias de las regiones variables de cadenas pesadas y cadenas ligeras. Basándose en el grado de conservación de las secuencias, clasificaron las secuencias primarias individuales en la CDR y el marco e hicieron una lista de las mismas (véase SEQUENCES OF IMMUNOLOGICAL INTEREST, 5ª edición, publicación NIH, Núm. 91-3242, E.A. Kabat et al.).

En la subclase de inmunoglobulinas IgG, existen varios dominios de inmunoglobulinas en la cadena pesada. Por "dominio de inmunoglobulina (Ig)" en la presente memoria se entiende una región de una inmunoglobulina que tiene una estructura terciaria distinta. Tienen en la presente invención los dominios de cadena pesada, que incluyen los dominios pesados constantes (CH) y los dominios bisagra. En el contexto de los anticuerpos IgG, los isotipos IgG tienen cada uno tres regiones CH. En consecuencia, los dominios "CH" en el contexto de IgG son los siguientes: "CH1" se refiere a las posiciones 118-220 según el índice EU como en Kabat. "CH2" se refiere a las posiciones 237-

340 según el índice EU como en Kabat, y "CH3" se refiere a las posiciones 341-447 según el índice EU como en Kabat. Como se muestra en la presente memoria y se describe a continuación, las variantes de pl pueden estar en una o más de las regiones CH, así como en la región bisagra, que se discute a continuación.

5 Cabe señalar que las secuencias representadas en la presente memoria comienzan en la región CH1, posición 118; las regiones variables no se incluyen excepto cuando se indica. Por ejemplo, el primer aminoácido de SEQ ID NO: 2, aunque designado como posición "1" en la lista de secuencias, corresponde a la posición 118 de la región CH1, de acuerdo con la numeración EU.

10 Otro tipo de dominio Ig de cadena pesada es la región bisagra. Por "bisagra" o "región de bisagra" o "región bisagra del anticuerpo" o "región bisagra de inmunoglobulina" en la presente memoria se entiende el polipéptido flexible que comprende los aminoácidos entre el primer y el segundo dominio constante de un anticuerpo. Estructuralmente, el dominio CH1 de IgG termina en la posición EU 220, y el dominio CH2 de IgG comienza en el residuo de la posición EU 237. Por lo tanto, se define en la presente memoria que para la IgG, la bisagra de anticuerpo incluye las posiciones 221 (D221 en IgG1) a 236 (G236 en IgG1), en donde la numeración está de acuerdo con el índice EU como en Kabat. En algunas realizaciones, por ejemplo en el contexto de una región Fc, se incluye la bisagra inferior, refiriéndose la "bisagra inferior" generalmente a las posiciones 226 o 230. Como se indica en la presente memoria, 15 las variantes de pl también se pueden elaborar en la región bisagra.

La cadena ligera generalmente comprende dos dominios, el dominio ligero variable (que contiene las CDR de la cadena ligera y junto con los dominios pesados variables que forman la región Fv), y una región de cadena ligera constante (a menudo denominada CL o Ck).

20 Otra región de interés para sustituciones adicionales, señalada a continuación, es la región Fc. Por "Fc" o "región Fc" o "dominio Fc", como se emplea en la presente memoria, se entiende el polipéptido que comprende la región constante de un anticuerpo que excluye el primer dominio de inmunoglobulina de la región constante y, en algunos casos, parte de la bisagra. Por lo tanto, Fc se refiere a los dos últimos dominios de inmunoglobulina de la región constante de IgA, IgD e IgG, los últimos tres dominios de inmunoglobulina de región constante de IgE e IgM, y la 25 bisagra flexible N-terminal para estos dominios. Para IgA e IgM, Fc puede incluir la cadena J. Para IgG, el dominio Fc comprende los dominios de inmunoglobulina Cy2 y Cy3 (Cy2 y Cy3) y la región de bisagra inferior entre Cy1 (Cy1) y Cy2 (Cy2). Aunque los límites de la región Fc pueden variar, se define normalmente que la región Fc de la cadena pesada de IgG humana incluye los residuos C226 o P230 en su extremo carboxilo, en donde la numeración está de acuerdo con el índice EU como en Kabat. En algunas realizaciones, como se describe más completamente a continuación, se realizan modificaciones de aminoácidos en la región Fc, por ejemplo, para alterar la unión a uno o 30 más receptores FcγR o al receptor FcRn.

Por consiguiente, en algunas realizaciones, la presente invención proporciona anticuerpos heterodiméricos que se basan en el uso de dos dominios Fc variantes de cadena pesada diferentes que se autoensamblarán para formar anticuerpos heterodiméricos.

35 En algunas realizaciones, los anticuerpos son completos. Por "anticuerpo completo" en la presente memoria se entiende la estructura que constituye la forma biológica natural de un anticuerpo, que incluye regiones variables y constantes, que incluye una o más modificaciones como se señala en la presente memoria, particularmente en los dominios Fc para permitir la formación de heterodimerización o la purificación de heterodímeros separados de los homodímeros. Un anticuerpo heterodimérico completo consiste en dos cadenas pesadas con diferentes dominios Fc 40 y dos cadenas ligeras o una cadena ligera común.

Alternativamente, los anticuerpos pueden incluir una variedad de estructuras como se muestra generalmente en las Figuras, que incluyen, pero no se limitan a, fragmentos de anticuerpos, anticuerpos monoclonales, anticuerpos bispecíficos, minicuerpos, anticuerpos de dominio, anticuerpos sintéticos (a veces denominados en la presente memoria "miméticos de anticuerpos"), anticuerpos quiméricos, anticuerpos humanizados, fusiones de anticuerpos (a 45 veces denominados "productos conjugados de anticuerpos") y fragmentos de cada uno, respectivamente.

En una realización, el anticuerpo es un fragmento de anticuerpo, siempre que contenga al menos un dominio constante que pueda ser modificado genéticamente para producir heterodímeros, tal como mediante la modificación genética de pl. Otros fragmentos de anticuerpos que se pueden utilizar incluyen fragmentos que contienen uno o más de los dominios CH1, CH2, CH3, bisagra y CL de la invención cuyo pl ha sido modificado genéticamente. Por 50 ejemplo, las fusiones de Fc son fusiones de la región Fc (CH2 y CH3, opcionalmente con la región bisagra) fusionada a otra proteína. Se conocen varias fusiones de Fc en la técnica y se pueden mejorar mediante la adición de las variantes de heterodimerización de la invención. En el presente caso, se pueden preparar fusiones de anticuerpos que comprenden CH1; CH1, CH2 y CH3; CH2; CH3; CH2 y CH3; CH1 y CH3, cualquiera o todas las cuales se pueden preparar opcionalmente con la región de bisagra, utilizando cualquier combinación de variantes de 55 heterodimerización descritas en la presente memoria.

Realizaciones de scFv

En algunas realizaciones de la presente invención, un monómero comprende una cadena pesada que comprende un scFV unido a un dominio Fc, y el otro monómero comprende una cadena pesada que comprende un Fab unido a un

dominio Fc, p. ej. una cadena pesada "típica" y una cadena ligera. Por "Fab" o "región Fab", como se emplea en la presente memoria, se entiende el polipéptido que comprende los dominios de inmunoglobulina VH, CH1, VL y CL. Fab puede referirse a esta región de forma aislada, o esta región en el contexto de un anticuerpo completo, un fragmento de anticuerpo o una proteína de fusión de Fab. Por "Fv" o "fragmento Fv" o "región Fv" como se emplea en la presente memoria se entiende un polipéptido que comprende los dominios VL y VH de un solo anticuerpo.

Varias de las realizaciones de anticuerpos heterodiméricos descritas en la presente memoria se basan en el uso de uno o más dominios scFv, que comprenden las cadenas pesadas variables y ligeras variables, unidas covalentemente utilizando un conector, formando un dominio de unión a antígeno. Algunas realizaciones en la presente memoria utilizan conectores "convencionales", generalmente conectores de glicina y serina, como es bien conocido en la técnica.

La presente invención proporciona adicionalmente conectores de scFv cargados, para facilitar la separación en el pl entre un primer y un segundo monómero. Es decir, al incorporar un conector de scFv cargado, ya sea positivo o negativo (o ambos, en el caso de armazones que utilizan scFv en diferentes monómeros), esto permite que el monómero que comprende el conector cargado altere el pl sin realizar más cambios en los dominios Fc. Estos conectores cargados se pueden sustituir en cualquier scFv que contenga conectores convencionales. Nuevamente, como apreciarán los expertos en la técnica, los conectores de scFv cargados se utilizan en la "hebra" o monómero correcto, de acuerdo con los cambios deseados en el pl. Por ejemplo, como se discute en la presente memoria, para preparar un anticuerpo heterodimérico de formato triple F, se calcula el pl original de la región Fv para cada uno de los dominios de unión a antígeno deseados, y se elige uno para preparar un scFv, y dependiendo del pl, se eligen conectores positivos o negativos.

Además, en el caso de las regiones scFv anti-CD3, los enlaces disulfuro se pueden modificar genéticamente en las cadenas pesadas y ligeras variables para proporcionar estabilidad adicional. Las secuencias de disulfuro adecuadas en el contexto de los scFv anti-CD3 se muestran en la Figura 8.

Anticuerpos quiméricos y humanizados

En algunas realizaciones, el anticuerpo puede ser una mezcla de diferentes especies, p. ej. un anticuerpo quimérico y/o un anticuerpo humanizado. En general, tanto "anticuerpos quiméricos" como "anticuerpos humanizados" se refieren a anticuerpos que combinan regiones de más de una especie. Por ejemplo, los "anticuerpos quiméricos" tradicionalmente comprenden regiones variables de un ratón (o rata, en algunos casos) y regiones constantes de un ser humano. Los "anticuerpos humanizados" generalmente se refieren a anticuerpos no humanos cuyas regiones marco de dominio variable han sido intercambiadas por secuencias encontradas en anticuerpos humanos. Generalmente, en un anticuerpo humanizado, todo el anticuerpo, excepto las CDR, está codificado por un polinucleótido de origen humano o es idéntico a dicho anticuerpo, excepto dentro de sus CDR. Las CDR, algunas o todas las cuales están codificadas por ácidos nucleicos que se originan en un organismo no humano, son injertadas en el marco de la hoja beta de una región variable de anticuerpo humano para crear un anticuerpo, cuya especificidad está determinada por las CDR injertadas. La creación de tales anticuerpos se describe, p. ej., en el documento WO 92/11018, Jones, 1986, Nature 321:522-525, Verhoeyen et al., 1988, Science 239:1534-1536. A menudo se requiere la "mutación inversa" de los residuos del marco aceptor seleccionados a los residuos del donante correspondiente para recuperar la afinidad que se pierde en la construcción injertada inicial (documentos US 5530101; US 5585089; US 5693761; US 5693762; US 6180370; US 5859205; US 5821337; US 6054297; US 6407213). El anticuerpo humanizado de manera óptima también comprenderá al menos una porción de una región constante de inmunoglobulina, típicamente la de una inmunoglobulina humana, y por lo tanto típicamente comprenderá una región Fc humana. Los anticuerpos humanizados también se pueden generar utilizando ratones con un sistema inmunitario modificado genéticamente. Roque et al., 2004, Biotechnol. Prog. 20:639-654. Una variedad de técnicas y métodos para humanizar y remodelar anticuerpos no humanos es bien conocida en la técnica (véase Tsurushita y Vásquez, 2004, Humanization of Monoclonal Antibodies, Molecular Biology of B Cells, 533-545, Elsevier Science (EE.UU.)). Los métodos de humanización incluyen, pero sin limitarse a, los métodos descritos por Jones et al., 1986, en Nature 321: 522-525; Riechmann et al., 1988; Nature 332:323-329; Verhoeyen et al., 1988, Science, 239:1534-1536; Queen et al., 1989, Proc Natl Acad Sci, USA 86: 10029-33; He et al., 1998, J. Immunol. 160:1029-1035; Carter et al., 1992, Proc Natl Acad Sci USA 89:4285-9, Presta et al., 1997, Cancer Res. 57(20):4593-9; Gorman et al., 1991, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88:4181-4185; O'Connor et al., 1998, Protein Eng 11:321-8. La humanización u otros métodos para reducir la inmunogenicidad de regiones variables de anticuerpos no humanos pueden incluir métodos de remodelación o reconstrucción de la superficie, como describen, por ejemplo, Roguska et al., 1994, en Proc. Natl. Acad. Sci. USA 91:969-973. En una realización, el anticuerpo parental se ha madurado por afinidad, como se conoce en la técnica. Se pueden emplear métodos basados en la estructura para la humanización y la maduración por afinidad, por ejemplo, como se describe en el documento USSN 11/004.590. Se pueden emplear métodos basados en la selección para humanizar y/o madurar por afinidad regiones variables de anticuerpos, incluidos, pero sin limitarse a, los métodos descritos por Wu et al., 1999, en J. Mol. Biol. 294:151-162; Baca et al., 1997, J. Biol. Chem 272(16):10678-10684; Rosok et al., 1996, J. Biol. Chem 271(37):22611-22618; Rader et al., 1998, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 95:8910-8915; Krauss et al., 2003, Protein Engineering 16(10):753-759. Otros métodos de humanización pueden implicar el injerto de solo partes de las CDR, incluidos, pero sin limitarse a, los métodos descritos en el documento USSN 09/810.510; Tan et al., 2002, J. Immunol. 169:1119-1125; De Pascalis et al., 2002, J. Immunol. 169:3076-3084.

Regiones constantes de cadena pesada heterodiméricas

En consecuencia, la presente descripción proporciona proteínas heterodiméricas basadas en el uso de monómeros que contienen regiones constantes de cadena pesada variantes, y específicamente los dominios Fc, como primer dominio. Por "monómero" en la presente memoria se entiende la mitad de la proteína heterodimérica. Cabe señalar que los anticuerpos tradicionales son en realidad tetraméricos (dos cadenas pesadas y dos cadenas ligeras). En el contexto de la presente invención, un par de cadenas pesada-ligera (si corresponde, por ejemplo, si el monómero comprende un Fab) se considera un "monómero". De manera similar, una región de cadena pesada que comprende el scFv se considera un monómero. En caso de que una región Fv sea un compañero de fusión (p. ej., dominios variables pesados y ligeros) y una proteína que no sea anticuerpo sea otro compañero de fusión, cada "mitad" se considera un monómero. Esencialmente, cada monómero comprende suficiente región constante de cadena pesada para permitir la modificación genética de heterodimerización, ya se trate de toda la región constante, p. ej., CH1-bisagra-CH2-CH3, la región Fc (CH2-CH3) o solo el dominio CH3.

Las regiones constantes de cadena pesada variantes pueden comprender la totalidad o parte de la región constante de la cadena pesada, incluida la construcción completa, CH1-bisagra-CH2-CH3, o porciones de las mismas, que incluyen, por ejemplo, CH2-CH3 o CH3 solo. Además, la región de la cadena pesada de cada monómero puede tener el mismo esqueleto (CH1-bisagra-CH2-CH3 o CH2-CH3) o diferente. Los truncamientos y adiciones de los extremos N y C terminales también se incluyen dentro de la definición; por ejemplo, algunas variantes de pl incluyen la adición de aminoácidos cargados al extremo C del dominio de la cadena pesada.

Por lo tanto, en general, un monómero de la presente construcción "triple F" es una región scFv-bisagra-dominio Fc) y el otro es (VH-CH1-bisagra-CH2-CH3 más la cadena ligera asociada), con variantes de heterodimerización, que incluyen variantes estéricas, isotópicas, de orientación por interacción electrostática de carga y variantes de pl, variantes de Fc y FcRn, variantes por ablación y dominios de unión a antígeno adicionales (con conectores opcionales) incluidos en estas regiones.

Además de las variantes de heterodimerización (p. ej., variantes estéricas y de pl) señaladas en la presente memoria, las regiones de cadena pesada también pueden contener sustituciones de aminoácidos adicionales, que incluyen cambios para alterar la unión de FcγR y FcRn como se discute a continuación.

Además, algunos monómeros pueden utilizar conectores entre la región constante de la cadena pesada variante y el compañero de fusión. Para la porción scFv del "abridor de botellas", se pueden utilizar conectores convencionales conocidos en la técnica, o los conectores de scFv cargados descritos en la presente memoria. En caso de que se formen compañeros de fusión adicionales (p. ej. Figuras 1 y 2), se pueden utilizar conectores peptídicos tradicionales, incluidos conectores flexibles de glicina y serina, o los conectores cargados de la Figura 9. En algunos casos, los conectores para su uso como componentes del monómero son diferentes de los definidos a continuación para las construcciones de ADC, y en muchas realizaciones son conectores no escindibles (tales como los susceptibles a proteasas), aunque los conectores escindibles pueden encontrar uso en algunas realizaciones.

Las variantes de heterodimerización incluyen varios tipos diferentes de variantes, incluidas, pero sin limitarse a, variantes estéricas (incluidas las variantes de carga) y variantes de pl, que se pueden combinar de forma opcional e independiente con cualquier otra variante. En estas realizaciones, es importante hacer coincidir el "monómero A" con el "monómero B"; es decir, si una proteína heterodimérica se basa tanto en variantes estéricas como en variantes de pl, estas deben coincidir correctamente con cada monómero: p. ej. el conjunto de variantes estéricas que funcionan (1 conjunto en el monómero A, 1 conjunto en el monómero B) se combina con conjuntos de variantes de pl (1 conjunto en el monómero A, 1 conjunto en el monómero B), de modo que las variantes en cada monómero están diseñadas para lograr la función deseada, teniendo en cuenta la "cualidad de la hebra" para el pl de modo que las variantes estéricas que pueden alterar el pl se coloquen en el monómero apropiado.

Es importante tener en cuenta que las variantes de heterodimerización señaladas en la presente memoria (por ejemplo, incluidas, pero sin limitarse a, las variantes mostradas en las Figuras 3 y 12), se pueden combinar de forma opcional e independiente con cualquier otra variante, y en cualquier otro monómero. Es decir, lo que es importante para la heterodimerización es que haya "conjuntos" de variantes, un conjunto para un monómero y un conjunto para el otro. Si estos se combinan a partir de las Figuras 1 a 1 (p. ej., las listas de monómero 1 pueden ir juntas) o si se cambian (las variantes de pl del monómero 1 con las variantes estéricas de monómero 2) es irrelevante. Sin embargo, como se indica en la presente memoria, se debe preservar la "cualidad de la hebra" cuando se realizan combinaciones como se señala anteriormente. Además, para las variantes de Fc adicionales (tales como para la unión de FcγR, la unión de FcRn, etc.), el monómero o ambos monómeros pueden incluir cualquiera de las variantes enumeradas, de forma independiente y opcional. En algunos casos, ambos monómeros tienen variantes adicionales y en algunos solo un monómero tiene variantes adicionales, o se pueden combinar.

Variantes de heterodimerización

La presente descripción proporciona proteínas heterodiméricas, que incluyen anticuerpos heterodiméricos en una variedad de formatos, que utilizan variantes heterodiméricas para permitir la formación y/o purificación heterodimérica separada de los homodímeros.

Variantes Estéricas

En algunas realizaciones, la formación de heterodímeros se puede facilitar mediante la adición de variantes estéricas. Es decir, al cambiar los aminoácidos en cada cadena pesada, es más probable que diferentes cadenas pesadas se asocien para formar la estructura heterodimérica que para formar homodímeros con las mismas secuencias de aminoácidos de Fc. Las variantes estéricas adecuadas se incluyen en la Figura 3 y en las Figuras 12A, 12B, 12C, 12D, 12F y 12G.

También se puede utilizar opcionalmente un mecanismo generalmente referido en la técnica como "botones y ojales", que se refiere a la modificación genética de aminoácidos que crea influencias estéricas para favorecer la formación heterodimérica y desfavorecer la formación homodimérica; esto es referido a veces como "botones y ojales", como se describe en el documento USSN 61/596.846, Ridgway et al., Protein Engineering 9(7):617 (1996); Atwell et al., J. Mol. Biol. 1997 270:26; Patente de Estados Unidos Núm. 8.216.805. Las figuras identifican varios pares de "monómero A - monómero B" que se basan en "botones y ojales". Además, como describen Merchant et al., en Nature Biotech. 16:677 (1998), estas mutaciones de "botones y ojales" se pueden combinar con enlaces disulfuro para sesgar la formación hacia la heterodimerización.

Un mecanismo adicional que se utiliza en la generación de heterodímeros a veces se denomina "orientación por interacción electrostática" como describen Gunasekaran et al., en J. Biol. Chem 285(25):19637 (2010). Esto es referido a veces en la presente memoria como "pares de carga". En esta realización, se utiliza la interacción electrostática para sesgar la formación hacia la heterodimerización. Como apreciarán los expertos en la técnica, estas también pueden tener efecto sobre el pI y, por lo tanto, sobre la purificación, y por lo tanto, en algunos casos también podrían considerarse variantes de pI. Sin embargo, como estas se generaron para forzar la heterodimerización y no se utilizaron como herramientas de purificación, se clasifican como "variantes estéricas". Estas incluyen, pero no se limitan a, D221E/P228E/L368E emparejada con D221R/P228R/K409R (p. ej., estas son "conjuntos correspondientes de monómero) y C220E/P228E/368E emparejada con C220R/E224R/P228R/K409R.

Las variantes adicionales de monómero A y monómero B que se pueden combinar con otras variantes, opcional e independientemente en cualquier cantidad, tales como las variantes de pI señaladas en la presente memoria u otras variantes estéricas se muestran en la Figura 37 del documento US 2012/0149876.

En algunas realizaciones, las variantes estéricas señaladas en la presente memoria se pueden incorporar opcional e independientemente a cualquier variante de pI (u otras variantes tales como variantes Fc, variantes FcRn, etc.) en uno o ambos monómeros, y se pueden incluir o excluirse independientemente y opcionalmente de las proteínas de la invención.

Variantes de pI (punto isoeléctrico) para heterodímeros

En general, como apreciarán los expertos en la técnica, existen dos categorías generales de variantes de pI: las que aumentan el pI de la proteína (cambios alcalinos) y las que disminuyen el pI de la proteína (cambios ácidos). Como se describe en la presente memoria, se pueden llevar a cabo todas las combinaciones de estas variantes: un monómero puede ser de tipo salvaje, o una variante que no muestre un pI significativamente diferente del tipo salvaje, y el otro puede ser más alcalino o más ácido. Alternativamente, cada monómero se cambia, uno a más alcalino y uno a más ácido.

Las combinaciones preferidas de variantes de pI se muestran en la Figura 3 y 12E.

Cambios de pI de cadena pesada

Se muestran varias variantes de pI en las Figuras 54 y 55. Como se señala en la presente memoria y se muestra en las figuras, estos cambios se muestran con respecto a IgG1, pero todos los isotipos pueden alterarse de esta manera, así como los híbridos de isotipo. En caso de que el dominio constante de la cadena pesada sea de IgG2-4, también se pueden utilizar R133E y R133Q.

Variantes de cadena ligera de heterodímeros de anticuerpos

En el caso de heterodímeros basados en anticuerpos, p. ej. donde al menos uno de los monómeros comprende una cadena ligera además del dominio de la cadena pesada, también se pueden preparar variantes de pI en la cadena ligera. Las sustituciones de aminoácidos para reducir el pI de la cadena ligera incluyen, pero no se limitan a, K126E, K126Q, K145E, K145Q, N152D, S156E, K169E, S202E, K207E y la adición de péptido DEDE en el extremo C de la cadena ligera. Los cambios en esta categoría basados en la cadena ligera lambda constante incluyen una o más sustituciones en R108Q, Q124E, K126Q, N138D, K145T y Q199E. Además, también se puede aumentar el pI de las cadenas ligeras.

Variantes isotópicas

Además, muchas realizaciones de la descripción se basan en la "importación" de aminoácidos de pI en posiciones particulares de un isotipo IgG a otro, reduciendo o eliminando así la posibilidad de que se introduzca

inmunogenicidad no deseada en las variantes. Algunos de estos se muestran en las Figuras 10A y 10B. Es decir, la IgG1 es un isotipo común para anticuerpos terapéuticos por una variedad de razones, que incluyen una alta función efectora. Sin embargo, la región constante pesada de IgG1 tiene un pI más alto que el de IgG2 (8,10 versus 7,31). Al introducir residuos de IgG2 en posiciones particulares en el esqueleto de IgG1, el pI del monómero resultante se reduce (o aumenta) y además exhibe una semivida en suero más larga. Por ejemplo, IgG1 tiene una glicina (pI 5,97) en la posición 137, e IgG2 tiene un ácido glutámico (pI 3,22); la importación del ácido glutámico afectará al pI de la proteína resultante. Como se describe a continuación, generalmente se requieren varias sustituciones de aminoácidos para afectar significativamente al pI del anticuerpo variante. Sin embargo, se debe observar como se discute a continuación que incluso los cambios en las moléculas de IgG2 permiten un aumento de la semivida en suero.

En otras realizaciones, se realizan cambios de aminoácidos no isotópicos, ya sea para reducir el estado de carga general de la proteína resultante (p. ej., cambiando un aminoácido de pI más alto a un aminoácido de pI más bajo), o para permitir adaptaciones en la estructura para la estabilidad, etc. como se describe más detalladamente a continuación.

Además, mediante la modificación genética del pI tanto en los dominios constantes tanto pesado como ligero, se pueden observar cambios significativos en cada monómero del heterodímero. Como se discute en la presente memoria, el hecho de tener los pI de los dos monómeros que difieren en al menos 0,5 puede permitir la separación por cromatografía de intercambio iónico o isoelectroenfoque u otros métodos sensibles al punto isoelectrónico.

Cálculo de pI

El pI de cada monómero puede depender del pI del dominio constante de la cadena pesada variante y el pI del monómero total, incluido el dominio constante de la cadena pesada variante y el compañero de fusión. Por lo tanto, en algunas realizaciones, el cambio en el pI se calcula basándose en el dominio constante de la cadena pesada variante, utilizando el gráfico de la Figura 53. Como se discute en la presente memoria, generalmente se decide qué monómero hay que modificar genéticamente por el pI inherente de las regiones del Fv y del armazón. Alternativamente, se puede comparar el pI de cada monómero.

Proteínas de fusión de Fc heterodiméricas

Además de los anticuerpos heterodiméricos, la invención proporciona proteínas heterodiméricas que comprenden un primer monómero que comprende una región Fc variante y un primer compañero de fusión y un segundo monómero, que también comprende una región Fc variante y un segundo compañero de fusión. Las regiones Fc variantes se modifican genéticamente como en la presente memoria para los anticuerpos, y por lo tanto son diferentes, y en general el primer y el segundo compañeros de fusión también son diferentes. En algunos casos, cuando un monómero está basado en anticuerpos (p. ej., que comprende una cadena pesada y ligera convencionales o un dominio Fc con un scFv) y el otro es una proteína de fusión de Fc, la proteína heterodimérica resultante se denomina "Fusionbody".

Variantes de pI que también confieren una mejor unión *in vivo* de FcRn

En el caso en el que las variantes de pI disminuyen el pI del monómero, estas pueden tener el beneficio adicional de mejorar la retención de suero *in vivo*.

Aunque todavía está bajo examen, se cree que las regiones Fc tienen semividas más largas *in vivo*, ya que la unión a FcRn a pH 6 en un endosoma secuestra el Fc (Ghetie y Ward, 1997 Immunol Today. 18(12): 592-598. El compartimento endosómico a continuación recicla el Fc a la superficie celular. Una vez que el compartimento se abre al espacio extracelular, el pH más alto, ~7,4, induce la liberación de Fc nuevamente a la sangre. En ratones, Dall'Acqua et al. mostraron que los mutantes de Fc con una mayor unión de FcRn a pH 6 y pH 7,4 en realidad presentaban una reducción de las concentraciones séricas y la misma semivida que el Fc de tipo salvaje (Dall'Acqua et al. 2002, J. Immunol. 169:5171-5180. Se cree que la mayor afinidad de Fc por FcRn a pH 7,4 prohíbe la liberación de Fc nuevamente a la sangre. Por lo tanto, las mutaciones de Fc que aumentarán la semivida de Fc *in vivo* idealmente aumentarán la unión de FcRn al pH más bajo mientras permite la liberación de Fc a un pH más alto. El aminoácido histidina cambia su estado de carga en el intervalo de pH de 6,0 a 7,4. Por lo tanto, no es sorprendente encontrar residuos de His en posiciones importantes en el complejo Fc/FcRn.

Recientemente se ha sugerido que los anticuerpos con regiones variables que tienen puntos isoelectrónicos más bajos también pueden tener semividas en suero más largas (Igawa et al., 2010 PEDS. 23(5): 385-392, incorporada en su totalidad como referencia). Sin embargo, el mecanismo de esto todavía es poco entendido. Además, las regiones variables difieren de un anticuerpo a otro. Las variantes de región constante con pI reducido y semivida prolongada proporcionarían un enfoque más modular para mejorar las propiedades farmacocinéticas de los anticuerpos, como se describe en la presente memoria.

Las variantes de pI que encuentran uso en esta realización, así como su uso para la optimización de la purificación, se describen en la Figura 20.

Combinación de variantes heterodiméricas

Como apreciarán los expertos en la técnica, todas las variantes de heterodimerización mencionadas se pueden combinar de forma opcional e independiente de cualquier manera, siempre que conserven su "cualidad de la hebra" o "partición de monómero". Además, todas estas variantes se pueden combinar en cualquiera de los formatos de heterodimerización.

En el caso de las variantes de pl, mientras que las realizaciones que encuentran un uso particular se muestran en las Figuras, se pueden generar otras combinaciones, siguiendo la regla básica de alterar la diferencia de pl entre dos monómeros para facilitar la purificación.

Ácidos nucleicos de la invención

La invención proporciona adicionalmente composiciones de ácido nucleico que codifican las proteínas heterodiméricas de la invención. Como apreciarán los expertos en la técnica, las composiciones de ácido nucleico dependerán del formato y el armazón de la proteína heterodimérica. Así, por ejemplo, cuando el formato requiere tres secuencias de aminoácidos, tal como para el formato triple F (p. ej., un primer monómero de aminoácidos que comprende un dominio Fc y un scFv, un segundo monómero de aminoácidos que comprende una cadena pesada y una cadena ligera), se pueden incorporar tres secuencias de ácido nucleico a uno o más vectores de expresión para su expresión. De manera similar, algunos formatos (p. ej., formatos scFv duales tales como los descritos en la Figura 1M) solo necesitan dos ácidos nucleicos; nuevamente, se pueden poner en uno o dos vectores de expresión.

Antígenos diana

Las proteínas heterodiméricas de la invención pueden elegir como diana virtualmente cualquier antígeno. El formato "triple F" es particularmente beneficioso para elegir como diana dos (o más) antígenos distintos. (Como se señala en la presente memoria, esta elección de la diana puede ser cualquier combinación de unión monovalente y divalente, dependiendo del formato). Por lo tanto, las inmunoglobulinas de la presente memoria vinculan conjuntamente preferiblemente dos antígenos diana, aunque en algunos casos, tres o cuatro antígenos pueden estar unidos monovalentemente. La especificidad de cada monómero se puede seleccionar de las listas a continuación. Si bien las inmunoglobulinas triple F descritas en la presente memoria son particularmente beneficiosas para atacar antígenos distintos, en algunos casos puede ser beneficioso atacar solo un antígeno. Es decir, cada monómero puede tener especificidad por el mismo antígeno.

Las aplicaciones adecuadas particulares de las proteínas heterodiméricas en la presente memoria son pares para dianas conjuntas para lo que es beneficioso o crítico vincular cada antígeno diana monovalentemente. Tales antígenos pueden ser, por ejemplo, receptores inmunitarios que se activan tras la complejación inmunitaria. La activación celular de muchos receptores inmunitarios se produce solo por entrecruzamiento, logrado típicamente por medio de complejos inmunitarios de anticuerpo/antígeno, o a través de la vinculación de célula efectora a célula diana. Para algunos receptores inmunitarios, por ejemplo, el receptor de señalización de CD3 en las células T, la activación solo tras la vinculación con la diana vinculada conjuntamente es crítica, ya que el entrecruzamiento no específico en un entorno clínico puede provocar una tormenta de citocinas y toxicidad. Desde el punto de vista terapéutico, al vincular tales antígenos de forma monovalente en lugar de multivalente, utilizando las inmunoglobulinas de la presente memoria, tal activación se produce solo en respuesta al entrecruzamiento solo en el microentorno del antígeno diana primario. La capacidad de elegir como diana dos antígenos diferentes con diferentes valencias es un aspecto novedoso y útil de la presente invención. Los ejemplos de antígenos diana para los que puede ser terapéuticamente beneficioso o necesario la vinculación conjunta de manera monovalente incluyen, pero no se limitan a, receptores de activación inmunitaria tales como CD3, FcγR, receptores tipo toll (TLR) tales como TLR4 y TLR9, citocina, quimiocina, receptores de citocinas y receptores de quimiocinas. En muchas realizaciones, uno de los sitios de unión a antígeno se une a CD3, y en algunas realizaciones es el monómero que contiene scFv.

Prácticamente cualquier antígeno puede ser elegido como diana por las inmunoglobulinas de la presente memoria, incluidas, pero sin limitarse a, proteínas, subunidades, dominios, motivos y/o epítomos que pertenecen a la siguiente lista de antígenos diana, que incluye tanto factores solubles tales como citocinas como factores unidos a membrana, incluidos los receptores transmembrana: 17-IA, 4-1BB, 4Dc, 6-ceto-PGF1α, 8-iso-PGF2α, 8-oxo-dG, Receptor de Adenosina A1, A33, ACE, ACE-2, Activina, Activina A, Activina AB, Activina B, Activina C, Activina RIA, Activina RIA ALK-2, Activina RIB ALK-4, Activina RIIA, Activina RIIB, ADAM, ADAM10, ADAM12, ADAM15, ADAM17/TACE, ADAM8, ADAM9, ADAMTS, ADAMTS4, ADAMTS5, Adresinas, aFGF, ALCAM, ALK, ALK-1, ALK-7, alfa-1-antitripsina, antagonista de alfa-V/beta-1, ANG, Ang, APAF-1, APE, APJ, APP, APRIL, AR, ARC, ART, Artemina, anti-Id, ASPARTICO, Factor natriurético auricular, integrina av/b3, Axl, b2M, B7-1, B7-2, B7-H, Estimulador de linfocitos B (BlyS), BACE, BACE-1, Bad, BAFF, BAFF-R, Bag-1, BAK, Bax, BCA-1, BCAM, Bcl, BCMA, BDNF, b-ECGF, bFGF, BID, Bik, BIM, BLC, BL-CAM, BLK, BMP, BMP-2, BMP-2a, BMP-3 Osteogenina, BMP-4, BMP-2b, BMP-5, BMP-6, Vgr-1, BMP-7 (OP-1), BMP-8 (BMP-8a, OP-2), BMPR, BMPR-IA (ALK-3), BMPR-IB (ALK-6), BRK-2, RPK-1, BMPR-II (BRK-3), BMP, b-NGF, BOK, Bombesina, Factor neurotrófico derivado de hueso, BPDE, BPDE-DNA, BTC, factor de complemento 3 (C3), C3a, C4, C5, C5a, C10, CA125, CAD-8, calcitonina, AMPc, antígeno carcinoembrionario (CEA), antígeno asociado a carcinoma, cathepsina A, cathepsina B, cathepsina C/DPPI, cathepsina

D, cathepsina E, cathepsina H, cathepsina L, cathepsina O, cathepsina S, cathepsina V, Cathepsina X/Z/P, CBL, CCL, CCK2, CCL, CCL1, CCL11, CCL12, CCL13, CCL14, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL2, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCL26, CCL27, CCL28, CCL3, CCL4, CCL5, CCL6, CCL7, CCL8, CCL9/10, CCR, CCR1, CCR10, CCR10, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CD1, CD2, CD3, CD3E, CD4, CD5, CD6, CD7, CD8, CD10, CD11a, CD11b, CD11c, CD13, CD14, CD15, CD16, CD18, CD19, CD20, CD21, CD22, CD23, CD25, CD27L, CD28, CD29, CD30, CD30L, CD32, CD33 (proteínas p67), CD34, CD38, CD40, CD40L, CD44, CD45, CD46, CD49a, CD52, CD54, CD55, CD56, CD61, CD64, CD66e, CD74, CD80 (B7-1), CD89, CD95, CD123, CD137, CD138, CD140a, CD146, CD147, CD148, CD152, CD164, CEACAM5, CFTR, cGMP, CINC, toxina de Clostridium botulinum, toxina de Clostridium perfringens, CKb8-1, CLC, CMV, CMV UL, CNTF, CNTN-1, COX, C-Ret, CRG-2, CT-1, CTACK, CTGF, CTLA-4, CX3CL1, CX3CR1, CXCL, CXCL1, CXCL2, CXCL3, CXCL4, CXCL5, CXCL6, CXCL7, CXCL8, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCL14, CXCL15, CXCL16, CXCR, CXCR1, CXCR2, CXCR3, CXCR4, CXCR5, CXCR6, antígeno asociado a tumores de citoqueratina, DAN, DCC, DcR3, DC-SIGN, Factor acelerador del decaimiento, des(1-3)-IGF-I (IGF-1 de cerebro), Dhh, digoxina, DNAM-1, ADNasa, Dpp, DPPIV/CD26, Dtk, ECAD, EDA, EDA-A1, EDA-A2, EDAR, EGF, EGFR (ErbB-1), EMA, EMMPRIN, ENA, receptor de endotelina, Enkefalinas, eNOS, Eot, eotaxina1, EpCAM, Efrina B2/ EphB4, EPO, ERCC, E-selectina, ET-1, Factor IIa, Factor VII, Factor VIIIc, Factor IX, proteína de activación de fibroblastos (FAP), Fas, FcR1, FEN-1, Ferritina, FGF, FGF-19, FGF-2, FGF3, FGF-8, FGFR, FGFR-3, Fibrina, FL, FLIP, Flt-3, Flt-4, Hormona estimuladora del folículo, Fractalquina, FZD1, FZD2, FZD3, FZD4, FZD5, FZD6, FZD7, FZD8, FZD9, FZD10, G250, Gas 6, GCP-2, GCSF, GD2, GD3, GDF, GDF-1, GDF-3 (Vgr-2), GDF-5 (BMP-14, CDMP-1), GDF-6 (BMP-13, CDMP-2), GDF-7 (BMP-12, CDMP-3), GDF-8 (Miostatina), GDF-9, GDF-15 (MIC-1), GDNF, GDNF, GFAP, GFRa-1, GFR-alfa1, GFR-alfa2, GFR-alfa3, GTR, Glucagón, Glut 4, glicoproteína IIb/IIIa (GP IIb/IIIa), GM-CSF, gp130, gp72, GRO, Factor de liberación de hormona del crecimiento, Hapteno (NP-cap o NIP-cap), HB-EGF, HCC, glicoproteína de la envoltura gB de HCMV, glicoproteína de la envoltura gH de HCMV, UL de HCMV, Factor de crecimiento hematopoyético (HGF), gp120 de Hep B, heparanasa, Her2, Her2/neu (ErbB-2), Her3 (ErbB-3), Her4 (ErbB-4), glicoproteína gB del virus herpes simplex (HSV), glicoproteína gD de HSV, HGFA, Antígeno asociado a melanoma de alto peso molecular (HMW-MAA), gp120 de HIV, bucle V3 de gp 120 de HIV IIIB, HLA, HLA-DR, HM1.24, HMFG PEM, HRG, Hrk, miosina cardiaca humana, citomegalovirus humano (HCMV), hormona del crecimiento humana (HGH), HVEM, I-309, IAP, ICAM, ICAM-1, ICAM-3, ICE, ICOS, IFNg, Ig, receptor de IgA, IgE, IGF, proteínas de unión a IGF, IGF-1R, IGFBP, IGF-I, IGF-II, IL, IL-1, IL-1R, IL-2, IL-2R, IL-4, IL-4R, IL-5, IL-5R, IL-6, IL-6R, IL-8, IL-9, IL-10, IL-12, IL-13, IL-15, IL-18, IL-18R, IL-23, interferón (INF)-alfa, INF-beta, INF-gamma, Inhibina, iNOS, cadena A de insulina, cadena B de insulina, Factor de crecimiento 1 de tipo insulínico, integrina alfa2, integrina alfa3, integrina alfa4, integrina alfa4/betal, integrina alfa4/beta7, integrina alfa5 (alfaV), integrina alfa5/betal, integrina alfa5/beta3, integrina alfa6, integrina beta1, integrina beta2, interferón gamma, IP-10, I-TAC, JE, Caliceína 2, Caliceína 5, Caliceína 6, Caliceína 11, Caliceína 12, Caliceína 14, Caliceína 15, Caliceína L1, Caliceína L2, Caliceína L3, Caliceína L4, KC, KDR, Factor de crecimiento de queratinocitos (KGF), laminina 5, LAMP, LAP, LAP (TGF- 1), TGF-1 latente, TGF-1 bp1 latente, LBP, LDGF, LECT2, Lefty, Antígeno Y de Lewis, antígeno relacionado con Y de Lewis, LFA-1, LFA-3, Lfo, LIF, LIGHT, lipoproteínas, LIX, LKN, Lpnt, Selectina L, LT-a, LT-b, LTB4, LTBP-1, Tensioactivo de Lung, Hormona luteinizante, Receptor de Linfotóxina Beta, Mac-1, MAdCAM, MAG, MAP2, MARC, MCAM, MCAM, MCK-2, MCP, M-CSF, MDC, Mer, METALOPROTEASAS, Receptor de MGDF, MGMT, MHC (HLA-DR), MIF, MIG, MIP, MIP-1-alfa, MK, MMAC1, MMP, MMP-1, MMP-10, MMP-11, MMP-12, MMP-13, MMP-14, MMP-15, MMP-2, MMP-24, MMP-3, MMP-7, MMP-8, MMP-9, MPIF, Mpo, MSK, MSP, mucina (Muc1), MUC18, Sustancia inhibidora Muelleriana, Mug, MuSK, NAIP, NAP, NCAD, N-Cadherina, NCA 90, NCAM, NCAM, Neprilisina, Neurotrofina-3,-4, o -6, Neurturina, Factor de crecimiento neuronal (NGF), NGFR, NGF-beta, nNOS, NO, NOS, Npn, NRG-3, NT, NTN, OB, OGG1, OPG, OPN, OSM, OX40L, OX40R, p150, p95, PADPr, Hormona paratiroides, PARC, PARP, PBR, PBSF, PCAD, P-Cadherina, PCNA, PDGF, PDGF, PDK-1, PECAM, PEM, PF4, PGE, PGF, PGI2, PGJ2, PIN, PLA2, Fosfatasa alcalina placentaria (PLAP), PIGF, PLP, PP14, Proinsulina, Prorrelaxina, Proteína C, PS, PSA, PSCA, Antígeno de membrana específico de próstata (PSMA), PTEN, PTHrp, Ptk, PTN, R51, RANK, RANKL, RANTES, RANTES, Cadena A de relaxina, Cadena B de relaxina, renina, virus sincitial respiratorio (RSV) F, Fgp de RSV, Ret, Factores reumatoides, RLIP76, RPA2, RSK, S100, SCF/KL, SDF-1, SERINA, Albúmina de suero, sFRP-3, Shh, SIGIRR, SK-1, SLAM, SLPI, SMAC, SMDF, SMOH, SOD, SPARC, Stat, STEAP, STEAP-II, TACE, TACI, TAG-72 (Glicoproteína 72 asociada a tumores), TARC, TCA-3, Receptores de células T (p. ej., Receptor alfa/beta de células T), TdT, TECK, TEM1, TEM5, TEM7, TEM8, TERT, Fosfatasa alcalina de tipo PLAP testicular, Tfr, TGF, TGF-alfa, TGF-beta, TGF-beta Pan-específico, TGF-beta RI (ALK-5), TGF-beta RII, TGF-beta RIIB, TGF-beta RIIL, TGF-beta1, TGF-beta2, TGF-beta3, TGF-beta4, TGF-beta5, Trombina, Ck-1 de timo, Hormona estimuladora de tiroides, Tie, TIMP, TIQ, Factor tisular, TMEFF2, Tfpo, TMPRSS2, TNF, TNF-alfa, TNF-alfa beta, TNF-beta2, TNFc, TNF-RI, TNF-RII, TNFRSF10A (TRAIL R1 Apo-2, DR4), TNFRSF10B (TRAIL R2 DR5, KILLER, TRICK-2A, TRICK-B), TNFRSF10C (TRAIL R3 DcR1, LIT, TRID), TNFRSF10D (TRAIL R4 DcR2, TRUND), TNFRSF11A (RANK ODF R, TRANCE R), TNFRSF11B (OPG OCIF, TR1), TNFRSF12 (TWEAK R FN14), TNFRSF13B (TACI), TNFRSF13C (BAFF R), TNFRSF14 (HVEM ATAR, HveA, LIGHT R, TR2), TNFRSF16 (NGFR p75NTR), TNFRSF17 (BCMA), TNFRSF18 (GTR AITR), TNFRSF19 (TROY TAJ, TRADE), TNFRSF19L (RELT), TNFRSF1A (TNF RI CD 120a, p55-60), TNFRSF1B (TNF RII CD 120b, p75-80), TNFRSF26 (TNFRH3), TNFRSF3 (LTbR TNF RIIL, TNFC R), TNFRSF4 (OX40 ACT35, TXGP1 R), TNFRSF5 (CD40 p50), TNFRSF6 (Fas Apo-1, APT1, CD95), TNFRSF6B (DcR3 M68, TR6), TNFRSF7 (CD27), TNFRSF8 (CD30), TNFRSF9 (4-1BB CD137, ILA), TNFRSF21 (DR6), TNFRSF22 (DcTRAIL R2 TNFRH2), TNFRST23 (DcTRAIL R1 TNFRH1), TNFRSF25 (DR3 Apo-3, LARD, TR-3, TRAMP, WSL-1), TNFSF10 (Ligando Apo-2 de TRAIL, TL2), TNFSF11 (Ligando ODF de TRANCE/RANK, Ligando OPG), TNFSF12 (Ligando Apo-3 de TWEAK, Ligando DR3), TNFSF13 (APRIL TALL2), TNFSF13B (BAFF BLYS,

TALL1, THANK, TNFSF20), TNFSF14 (Ligando LIGHT HVEM, LTg), TNFSF15 (TL1A/VEGI), TNFSF18 (Ligando GTR Ligando AITR, TL6), TNFSF1A (Conectina TNF-a, DIF, TNFSF2), TNFSF1B (TNF-b LTa, TNFSF1), TNFSF3 (LTb TNFC, p33), TNFSF4 (Ligando gp34 de OX40, TXGP1), TNFSF5 (Ligando CD154 de CD40, gp39, HIGM1, IMD3, TRAP), TNFSF6 (Ligando Fas Ligando Apo-1, Ligando APT1), TNFSF7 (Ligando CD70 de CD27), TNFSF8 (Ligando CD153 de CD30), TNFSF9 (Ligando 4-1BB Ligando CD137), TP-1, t-PA, Tpo, TRAIL, TRAIL R, TRAIL-R1, TRAIL-R2, TRANCE, receptor de transferrina, TRF, Trk, TROP-2, TSG, TSLP, antígeno asociado a tumores CA 125, antígeno asociado a tumores que expresa el carbohidrato relacionado con Y de Lewis, TWEAK, TXB2, Ung, uPAR, uPAR-1, Uroquinasa, VCAM, VCAM-1, VECAD, VE-Cadherina, VE-cadherina-2, VEGFR-1 (flt-1), VEGF, VEGFR, VEGFR-3 (flt-4), VEGF, VIM, Antígenos virales, VLA, VLA-1, VLA-4, Integrina VNR, Factor von Willebrand, WIF-1, WNT1, WNT2, WNT2B/13, WNT3, WNT3A, WNT4, WNT5A, WNT5B, WNT6, WNT7A, WNT7B, WNT8A, WNT8B, WNT9A, WNT9B, WNT10A, WNT10B, WNT11, WNT16, XCL1, XCL2, XCR1, XCR1, XEDAR, XIAP, XPD, y receptores para hormonas y factores de crecimiento. Para formar los anticuerpos biespecíficos o triespecíficos de la invención, se pueden preparar anticuerpos para cualquier combinación de estos antígenos; es decir, cada uno de estos antígenos se puede incluir o excluir opcional e independientemente de un anticuerpo multiespecífico de acuerdo con la presente invención.

Los antígenos ilustrativos que pueden ser elegidos como diana específicamente por las inmunoglobulinas de la invención incluyen, pero no se limitan a: CD20, CD19, Her2, EGFR, EpCAM, CD3, FcγRIIIa (CD16), FcγRIIIa (CD32a), FcγRIIb (CD32b), FcγRI (CD64), Receptores tipo Toll (TLR) como TLR4 y TLR9, citocinas tales como IL-2, IL-5, IL-13, IL-12, IL-23 y TNFα, receptores de citocinas tales como IL-2R, quimiocinas, receptores de quimiocinas, factores de crecimiento tales como VEGF y HGF, y similares. Para formar los anticuerpos multiespecíficos de la invención, se pueden preparar anticuerpos para cualquier combinación de estos antígenos; es decir, cada uno de estos antígenos se puede incluir o excluir opcional e independientemente de un anticuerpo multiespecífico de acuerdo con la presente invención.

Las combinaciones particularmente preferidas para anticuerpos biespecíficos son un dominio de unión a antígeno para CD3 y un dominio de unión a antígeno para CD19; un dominio de unión a antígeno para CD3 y un dominio de unión a antígeno para CD33; un dominio de unión a antígeno para CD3 y un dominio de unión a antígeno para CD 38. Nuevamente, en muchas realizaciones, el dominio de unión a CD3 es el scFv, que tiene una secuencia ilustrativa como se representa en las Figuras y/o CDR de CD3 como se señala.

La elección de antígenos diana y dianas conjuntas adecuados depende de la aplicación terapéutica deseada. Algunas dianas que han demostrado ser especialmente susceptibles a la terapia con anticuerpos son aquellas con funciones de señalización. Otros anticuerpos terapéuticos ejercen sus efectos al bloquear la señalización del receptor al inhibir la unión entre un receptor y su ligando cognado. Otro mecanismo de acción de los anticuerpos terapéuticos consiste en causar la regulación por disminución del receptor. Otros anticuerpos no funcionan mediante la señalización a través de su antígeno diana. La elección de las dianas conjuntas dependerá de la biología detallada que subyace a la patología de la indicación que se esté tratando.

La terapia con anticuerpos monoclonales se ha convertido en una modalidad terapéutica importante para el cáncer (Weiner et al., 2010, Nature Reviews Immunology 10:317-327; Reichert et al., 2005, Nature Biotechnology 23[9]: 1073-1078). Para el tratamiento contra el cáncer, puede ser deseable elegir como diana un antígeno (antígeno-1) cuya expresión se restringe a las células cancerosas mientras se dirige conjuntamente a un segundo antígeno (antígeno-2) que media en alguna actividad de destrucción inmunológica. Para otros tratamientos, puede ser beneficioso elegir como diana conjuntamente dos antígenos, por ejemplo, dos factores angiogénicos o dos factores de crecimiento, que se sabe que desempeñan algún papel en la proliferación del tumor. Las dianas conjuntas ilustrativas para oncología incluyen, pero sin limitarse a, HGF y VEGF, IGF-1R y VEGF, Her2 y VEGF, CD19 y CD3, CD20 y CD3, Her2 y CD3, CD19 y FcγRIIIa, CD20 y FcγRIIIa, Her2 y FcγRIIIa. Una inmunoglobulina de la invención puede ser capaz de unir VEGF y fosfatidilserina; VEGF y ErbB3; VEGF y PLGF; VEGF y ROBO4; VEGF y BSG2; VEGF y CDCP1; VEGF y ANPEP; VEGF y c-MET; HER-2 y ERB3; HER-2 y BSG2; HER-2 y CDCP1; HER-2 y ANPEP; EGFR y CD64; EGFR y BSG2; EGFR y CDCP1; EGFR y ANPEP; IGF1R y PDGFR; IGF1R y VEGF; IGF1R y CD20; CD20 y CD74; CD20 y CD30; CD20 y DR4; CD20 y VEGFR2; CD20 y CD52; CD20 y CD4; HGF y c-MET; HGF y NRP1; HGF y fosfatidilserina; ErbB3 y IGF1R; ErbB3 y IGF1,2; c-Met y Her-2; c-Met y NRP1; c-Met y IGF1R; IGF1,2 y PDGFR; IGF1,2 y CD20; IGF1,2 y IGF1R; IGF2 y EGFR; IGF2 y HER2; IGF2 y CD20; IGF2 y VEGF; IGF2 y IGF1R; IGF1 y IGF2; PDGFRa y VEGFR2; PDGFRa y PLGF; PDGFRa y VEGF; PDGFRa y c-Met; PDGFRa y EGFR; PDGFRb y VEGFR2; PDGFRb y c-Met; PDGFRb y EGFR; RON y c-Met; RON y MTSP1; RON y MSP; RON y CDCP1; VGFR1 y PLGF; VGFR1 y RON; VGFR1 y EGFR; VEGFR2 y PLGF; VEGFR2 y NRP1; VEGFR2 y RON; VEGFR2 y DLL4; VEGFR2 y EGFR; VEGFR2 y ROBO4; VEGFR2 y CD55; LPA y SIP; EPHB2 y RON; CTLA4 y VEGF; CD3 y EPCAM; CD40 y IL6; CD40 y IGF; CD40 y CD56; CD40 y CD70; CD40 y VEGFR1; CD40 y DR5; CD40 y DR4; CD40 y APRIL; CD40 y BCMA; CD40 y RANKL; CD28 y MAPG; CD80 y CD40; CD80 y CD30; CD80 y CD33; CD80 y CD74; CD80 y CD2; CD80 y CD3; CD80 y CD19; CD80 y CD4; CD80 y CD52; CD80 y VEGF; CD80 y DR5; CD80 y VEGFR2; CD22 y CD20; CD22 y CD80; CD22 y CD40; CD22 y CD23; CD22 y CD33; CD22 y CD74; CD22 y CD19; CD22 y DR5; CD22 y DR4; CD22 y VEGF; CD22 y CD52; CD30 y CD20; CD30 y CD22; CD30 y CD23; CD30 y CD40; CD30 y VEGF; CD30 y CD74; CD30 y CD19; CD30 y DR5; CD30 y DR4; CD30 y VEGFR2; CD30 y CD52; CD30 y CD4; CD138 y RANKL; CD33 y FTL3; CD33 y VEGF; CD33 y VEGFR2; CD33 y CD44; CD33 y DR4; CD33 y DR5; DR4 y CD137; DR4 y IGF1,2; DR4 y IGF1R; DR4 y DR5; DR5 y CD40; DR5 y CD137; DR5 y CD20; DR5 y EGFR; DR5 y IGF1,2; DR5 y IGFR, DR5 y HER-2, y EGFR y DLL4. Otras combinaciones de dianas

incluyen uno o más miembros de la familia EGF/erb-2/erb-3.

Otras dianas (una o más) implicadas en enfermedades oncológicas que las inmunoglobulinas de la presente memoria se pueden unir incluyen, pero sin limitarse a, las seleccionados del grupo que consiste en: CD52, CD20, CD19, CD3, CD4, CD8, BMP6, IL12A, IL1A, IL1B, 1L2, IL24, INHA, TNF, TNFSF10, BMP6, EGF, FGF1, FGF10, FGF11, FGF12, FGF13, FGF14, FGF16, FGF17, FGF18, FGF19, FGF2, FGF20, FGF21, FGF22, FGF23, FGF3, FGF4, FGF5, FGF6, FGF7, FGF8, FGF9, GRP, IGF1, IGF2, IL12A, IL1A, IL1B, 1L2, INHA, TGFA, TGFB1, TGFB2, TGFB3, VEGF, CDK2, FGF10, FGF18, FGF2, FGF4, FGF7, IGF1R, IL2, BCL2, CD164, CDKN1A, CDKN1B, CDKN1C, CDKN2A, CDKN2B, CDKN2C, CDKN3, GNRH1, IGFBP6, IL1A, IL1B, ODZ1, PAWR, PLG, TGFB111, AR, BRCA1, CDK3, CDK4, CDK5, CDK6, CDK7, CDK9, E2F1, EGFR, ENO1, ERBB2, ESR1, ESR2, IGFBP3, IGFBP6, IL2, INSL4, MYC, NOX5, NR6A1, PAP, PCNA, PRKCQ, PRKD1, PRL, TP53, FGF22, FGF23, FGF9, IGFBP3, IL2, INHA, KLK6, TP53, CHGB, GNRH1, IGF1, IGF2, INHA, INSL3, INSL4, PRL, KLK6, SHBG, NR1D1, NR1H3, NR1I3, NR2F6, NR4A3, ESR1, ESR2, NR0B1, NR0B2, NR1D2, NR1H2, NR1H4, NR1I2, NR2C1, NR2C2, NR2E1, NR2E3, NR2F1, NR2F2, NR3C1, NR3C2, NR4A1, NR4A2, NR5A1, NR5A2, NR6 μ l, PGR, RARB, FGF1, FGF2, FGF6, KLK3, KRT1, APOC1, BRCA1, CHGA, CHGB, CLU, COL1A1, COL6A1, EGF, ERBB2, ERK8, FGF1, FGF10, FGF11, FGF13, FGF14, FGF16, FGF17, FGF18, FGF2, FGF20, FGF21, FGF22, FGF23, FGF3, FGF4, FGF5, FGF6, FGF7, FGF8, FGF9, GNRH1, IGF1, IGF2, IGFBP3, IGFBP6, IL12A, IL1A, IL1B, 1L2, IL24, INHA, INSL3, INSL4, KLK10, KLK12, KLK13, KLK14, KLK15, KLK3, KLK4, KLK5, KLK6, KLK9, MMP2, MMP9, MSMB, NTN4, ODZ1, PAP, PLAU, PRL, PSAP, SERPINA3, SHBG, TGFA, TIMP3, CD44, CDH1, CDH10, CDH19, CDH20, CDH7, CDH9, CDH1, CDH10, CDH18, CDH19, CDH20, CDH7, CDH8, CDH9, ROBO2, CD44, ILK, ITGA1, APC, CD164, COL6A1, MTSS1, PAP, TGFB111, AGR2, AIG1, AKAP1, AKAP2, CANT1, CAV1, CDH12, CLDN3, CLN3, CYB5, CYC1, DAB21P, DES, DNCL1, ELAC2, ENO2, ENO3, FASN, FLJ12584, FLJ25530, GAGEB1, GAGEC1, GGT1, GSTP1, HIP1, HUMCYT2A, IL29, K6HF, KAI1, KRT2A, MIB1, PART1, PATE, PCA3, PIAS2, PIK3CG, PPID, PR1, PSCA, SLC2A2, SLC33 μ l, SLC43 μ l, STEAP, STEAP2, TPM1, TPM2, TRPC6, ANGPT1, ANGPT2, ANPEP, ECGF1, EREG, FGF1, FGF2, FIGF, FLT1, JAG1, KDR, LAMA5, NRP1, NRP2, PGF, PLXDC1, STAB 1, VEGF, VEGFC, ANGPTL3, BAI1, COL4A3, IL8, LAMA5, NRP1, NRP2, STAB 1, ANGPTL4, PECAM1, PF4, PROK2, SERPINF1, TNFAIP2, CCL11, CCL2, CXCL1, CXCL10, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL9, IFNA1, IFNB1, IFNG, IL1B, IL6, MDK, EDG1, EFNA1, EFNA3, EFNB2, EGF, EPHB4, FGFR3, HGF, IGF1, ITGB3, PDGFA, TEK, TGFA, TGFB1, TGFB2, TGFB3, CCL2, CDH5, COL1A1, EDG1, ENG, ITGAV, ITGB3, THBS1, THBS2, BAD, BAG1, BCL2, CCNA1, CCNA2, CCND1, CCNE1, CCNE2, CDH1 (cadherina E), CDKN1B (p27Kip1), CDKN2A (p16INK4a), COL6A1, CTNNB1 (catenina b), CTSB (cathepsina B), ERBB2 (Her-2), ESR1, ESR2, F3 (TF), FOSL1 (FRA-1), GATA3, GSN (Gelsolina), IGFBP2, IL2RA, IL6, IL6R, IL6ST (glicoproteína 130), ITGA6 (integrina α 6), JUN, KLK5, KRT19, MAP2K7 (c-Jun), MKI67 (Ki-67), NGFB (GF), NGFR, NME1 (M23A), PGR, PLAU (uPA), PTEN, SERPINB5 (maspina), SERPINE1 (PAI-1), TGFA, THBS1 (trombospondina-1), TIE (Tie-1), TNFRSF6 (Fas), TNFSF6 (FasL), TOP2A (topoisomerasa α), TP53, AZGP1 (zinc- α -glicoproteína), BPAG1 (plectina), CDKN1A (p21Wap1/Cip1), CLDN7 (claudina-7), CLU (clusterina), ERBB2 (Her-2), FGF1, FLRT1 (fibronectina), GABRP (GABA α), GNAS1, ID2, ITGA6 (integrina α 6), ITGB4 (integrina β 4), KLF5 (BP Caja GC), KRT19 (Queratina 19), KRT19B (Queratina tipo II específica de cabello), MACMARCKS, MT3 (metalotionectina-III), MUC1 (mucina), PTGS2 (COX-2), RAC2 (p21Rac2), S100A2, SCGB1D2 (lipofilina B), SCGB2A1 (mamaglobina 2), SCGB2A2 (mamaglobina 1), SPRR1B (Spr1), THBS1, THBS2, THBS4, y TNFAIP2 (B94), RON, c-Met, CD64, DLL4, PLGF, CTLA4, fosfatidilserina, ROBO4, CD80, CD22, CD40, CD23, CD28, CD80, CD55, CD38, CD70, CD30, CD138, CD56, CD33, CD2, CD137, DR4, DR5, RANKL, VEGFR2, PDGFR, VEGFR1, MTSP1, MSP, EPHB2, EPHA1, EPHA2, EpCAM, PGE2, NKG2D, LPA, SIP, APRIL, BCMA, MAPG, FLT3, PDGFR α , PDGFR β , ROR1, PSMA, PSCA, SCD1, y CD59. Para formar los anticuerpos biespecíficos o triespecíficos de la invención, se pueden preparar anticuerpos para cualquier combinación de estos antígenos; es decir, cada uno de estos antígenos se puede incluir o excluir opcional e independientemente de un anticuerpo multiespecífico de acuerdo con la presente invención.

La terapia con anticuerpos monoclonales se ha convertido en una modalidad terapéutica importante para el tratamiento de trastornos autoinmunitarios e inflamatorios (Chan y Carter, 2010, Nature Reviews Immunology 10:301-316; Reichert et al., 2005, Nature Biotechnology 23[9]:1073-1078). Muchas proteínas han sido implicadas en respuestas autoinmunitarias e inflamatorias generales, y por lo tanto pueden ser elegidas como diana por las inmunoglobulinas de la invención. Las dianas autoinmunitarias e inflamatorias incluyen, pero sin limitarse a, C5, CCL1 (I-309), CCL11 (eotaxina), CCL13 (mcp-4), CCL15 (MIP-1d), CCL16 (HCC-4), CCL17 (TARC), CCL18 (PARC), CCL19, CCL2 (mcp-1), CCL20 (MIP-3a), CCL21 (MIP-2), CCL23 (MPIF-1), CCL24 (MPIF-2/eotaxina-2), CCL25 (TECK), CCL26, CCL3 (MIP-1a), CCL4 (MIP-1b), CCL5 (RANTES), CCL7 (mcp-3), CCL8 (mcp-2), CXCL1, CXCL10 (IP-10), CXCL11 (1-TAC/IP-9), CXCL12 (SDF1), CXCL13, CXCL14, CXCL2, CXCL3, CXCL5 (ENA-78/LIX), CXCL6 (GCP-2), CXCL9, IL13, IL8, CCL13 (mcp-4), CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CX3CR1, IL8RA, XCR1 (CXCR1), IFNA2, IL10, IL13, IL17C, IL1A, IL1B, IL1F10, IL1F5, IL1F6, IL1F7, IL1F8, IL1F9, IL22, IL5, IL8, IL9, LTA, LTB, MIF, SCYE1 (Citocina activadora de monocitos endoteliales), SPP1, TNF, TNFSF5, IFNA2, IL10RA, IL10RB, IL13, IL13RA1, IL5RA, IL9, IL9R, ABCF1, BCL6, C3, C4A, CEBPB, CRP, ICEBERG, IL1R1, IL1RN, IL8RB, LTB4R, TOLLIP, FADD, IRAK1, IRAK2, MYD88, NCK2, TNFAIP3, TRADD, TRAF1, TRAF2, TRAF3, TRAF4, TRAF5, TRAF6, ACVR1, ACVR1B, ACVR2, ACVR2B, ACVRL1, CD28, CD3E, CD3G, CD3Z, CD69, CD80, CD86, CNR1, CTLA4, CYSLTR1, FCER1A, FCER2, FCGR3A, GPR44, HAVCR2, OPRD1, P2RX7, TLR2, TLR3, TLR4, TLR5, TLR6, TLR7, TLR8, TLR9, TLR10, BLR1, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL11, CCL13, CCL15, CCL16, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL21, CCL22, CCL23, CCL24, CCL25, CCR1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CCR9, CX3CL1, CX3CR1, CXCL1,

CXCL2, CXCL3, CXCL5, CXCL6, CXCL10, CXCL11, CXCL12, CXCL13, CXCR4, GPR2, SCYE1, SDF2, XCL1, XCL2, XCR1, AMH, AMHR2, BMPR1A, BMPR1B, BMPR2, C19orf10 (IL27w), CER1, CSF1, CSF2, CSF3, DKFZp451J0118, FGF2, GF11, IFNA1, IFNB1, IFNG, IGF1, IL1A, IL1B, IL1R1, IL1R2, IL2, IL2RA, IL2RB, IL2RG, IL3, IL4, IL4R, IL5, IL5RA, IL6, IL6R, IL6ST, IL7, IL8, IL8RA, IL8RB, IL9, IL9R, IL10, IL10RA, IL10RB, IL11, IL12RA, IL12A, IL12B, IL12RB1, IL12RB2, IL13, IL13RA1, IL13RA2, IL15, IL15RA, IL16, IL17, IL17R, IL18, IL18R1, IL19, IL20, KITLG, LEP, LTA, LTB, LTB4R, LTB4R2, LTBR, MIF, NPPB, PDGFB, TBX21, TDGF1, TGFA, TGFB1, TGFB111, TGFB2, TGFB3, TGFB1, TGFB2, TGFB3, TH1L, TNF, TNFRSF1A, TNFRSF1B, TNFRSF7, TNFRSF8, TNFRSF9, TNFRSF11A, TNFRSF21, TNFSF4, TNFSF5, TNFSF6, TNFSF11, VEGF, ZFPM2, y RNF110 (ZNF144). Para formar los anticuerpos biespecíficos o triespecíficos de la invención, se pueden preparar anticuerpos para cualquier combinación de estos antígenos; es decir, cada uno de estos antígenos puede incluirse o excluirse opcional e independientemente de un anticuerpo multiespecífico de acuerdo con la presente invención.

Las dianas conjuntas ilustrativas para trastornos autoinmunitarios e inflamatorios incluyen, pero no se limitan a, IL-1 y TNF alfa, IL-6 y TNF alfa, IL-6 e IL-1, IgE e IL-13, IL-1 e IL-13, IL-4 e IL-13, IL-5 e IL-13, IL-9 e IL-13, CD19 y FcγRIIb, y CD79 y FcγRIIb.

Se contemplan las inmunoglobulinas de la invención con especificidad para los siguientes pares de dianas para tratar enfermedades inflamatorias: TNF e IL-17A; TNF y RANKL; TNF y VEGF; TNF y SOST; TNF y DKK; TNF y alfaVbeta3; TNF y NGF; TNF e IL-23p19; TNF e IL-6; TNF y SOST; TNF e IL-6R; TNF y CD-20; IgE e IL-13; IL-13 e IL-23p19; IgE e IL-4; IgE e IL-9; IgE e IL-9; IgE e IL-13; IL-13 e IL-9; IL-13 e IL-4; IL-13 e IL-9; IL-13 e IL-9; IL-13 e IL-4; IL-13 e IL-23p19; IL-13 e IL-9; IL-6R y VEGF; IL-6R e IL-17A; IL-6R y RANKL; IL-17A e IL-1beta; IL-1beta y RANKL; IL-1beta y VEGF; RANKL y CD-20; IL-1 alfa e IL-1 beta; IL-1alfa e IL-1beta.

Se pueden determinar pares de dianas a las que las inmunoglobulinas descritas en la presente memoria pueden unirse y ser útiles para tratar el asma. En una realización, tales dianas incluyen, pero no se limitan a, IL-13 e IL-1beta, ya que IL-1beta también está implicada en la respuesta inflamatoria en el asma; IL-13 y citocinas y quimiocinas que están implicadas en la inflamación, tales como IL-13 e IL-9; IL-13 e IL-4; IL-13 e IL-5; IL-13 e IL-25; IL-13 y TARC; IL-13 y MDC; IL-13 y MIF; IL-13 y TGF-β; IL-13 y agonista de LHR; IL-13 y CL25; IL-13 y SPRR2a; IL-13 y SPRR2b; e IL-13 y ADAM8. Las inmunoglobulinas en la presente memoria pueden tener especificidad para una o más dianas implicadas en el asma seleccionadas del grupo que consiste en CSF1 (MCSF), CSF2 (GM-CSF), CSF3 (GCSF), FGF2, IFNA1, IFNB1, IFNG, histamina y receptores de histamina, IL1A, IL1B, IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL7, IL8, IL9, IL10, IL11, IL12A, IL12B, IL13, IL14, IL15, IL16, IL17, IL18, IL19, KITLG, PDGFB, IL2RA, IL4R, IL5RA, IL8RA, IL8RB, IL12RB1, IL12RB2, IL13RA1, IL13RA2, IL18R1, TSLP, CCL1, CCL2, CCL3, CCL4, CCL5, CCL7, CCL8, CCL13, CCL17, CCL18, CCL19, CCL20, CCL22, CCL24, CX3CL1, CXCL1, CXCL2, CXCL3, XCL1, CCR2, CCR3, CCR4, CCR5, CCR6, CCR7, CCR8, CX3CR1, GPR2, XCR1, FOS, GATA3, JAK1, JAK3, STAT6, TBX21, TGFB1, TNF, TNFSF6, YY1, CYSLTR1, FCER1A, FCER2, LTB4R, TB4R2, LTBR, y quitinasa. Para formar los anticuerpos biespecíficos o triespecíficos de la invención, se pueden preparar anticuerpos para cualquier combinación de estos antígenos; es decir, cada uno de estos antígenos se puede incluir o excluir opcional e independientemente de un anticuerpo multiespecífico de acuerdo con la presente invención.

Los pares de dianas implicados en la artritis reumatoide (AR) pueden ser elegidos como dianas conjuntas de la invención, incluidas, pero sin limitarse a, TNF e IL-18; TNF e IL-12; TNF e IL-23; TNF e IL-1beta; TNF y MIF; TNF e IL-17; y TNF e IL-15.

Los antígenos que pueden ser elegidos como diana para tratar el lupus eritematoso sistémico (LES) mediante las inmunoglobulinas en la presente memoria incluyen, pero no se limitan a, CD-20, CD-22, CD-19, CD28, CD4, CD80, HLA-DRA, IL10, IL2, IL4, TNFRSF5, TNFRSF6, TNFSF5, TNFSF6, BLR1, HDAC4, HDAC5, HDAC7A, HDAC9, ICOSL, IGBP1, MS4A1, RGS1, SLA2, CD81, IFNB1, IL10, TNFRSF5, TNFRSF7, TNFSF5, AICDA, BLNK, GALNAC4S-6ST, HDAC4, HDAC5, HDAC7A, HDAC9, IL10, IL11, IL4, INHA, INHBA, KLF6, TNFRSF7, CD28, CD38, CD69, CD80, CD83, CD86, DPP4, FCER2, IL2RA, TNFRSF8, TNFSF7, CD24, CD37, CD40, CD72, CD74, CD79A, CD79B, CR2, IL1R2, ITGA2, ITGA3, MS4A1, ST6GAL1, CDIC, CHST10, HLA-A, HLA-DRA, y NT5E.; CTLA4, B7.1, B7.2, BlyS, BAFF, C5, IL-4, IL-6, IL-10, IFN-α, y TNF-α. Para formar los anticuerpos biespecíficos o triespecíficos de la invención, se pueden preparar anticuerpos para cualquier combinación de estos antígenos; es decir, cada uno de estos antígenos se puede incluir o excluir opcional e independientemente de un anticuerpo multiespecífico de acuerdo con la presente invención.

Las inmunoglobulinas en la presente memoria pueden elegir como diana antígenos para el tratamiento de la esclerosis múltiple (EM), incluyendo, pero sin limitarse a, IL-12, TWEAK, IL-23, CXCL13, CD40, CD40L, IL-18, VEGF, VLA-4, TNF, CD45RB, CD200, IFNγ, GM-CSF, FGF, C5, CD52 y CCR2. Una realización incluye la vinculación conjunta de anti-IL-12 y TWEAK para el tratamiento de la EM.

Un aspecto de la descripción se refiere a las inmunoglobulinas capaces de unirse a uno o más dianas implicadas en la sepsis, en una realización dos dianas, seleccionadas del grupo que consiste en TNF, IL-1, MIF, IL-6, IL-8, IL-18, IL-12, IL-23, FasL, LPS, Receptores de tipo Toll, TLR-4, factor tisular, MIP-2, ADORA2A, CASP1, CASP4, IL-10, IL-1B, NFκB1, PROC, TNFRSF1A, CSF3, CCR3, IL1RN, MIF, NFκB1, PTAFR, TLR2, TLR4, GPR44, HMOX1, midquina, IRAK1, NFκB2, SERPINA1, SERPINE1, y TREM1. Para formar los anticuerpos biespecíficos o triespecíficos, se pueden preparar anticuerpos para cualquier combinación de estos antígenos; es decir, cada uno de estos antígenos

se puede incluirse o excluir opcional e independientemente de un anticuerpo multiespecífico de acuerdo con la presente invención.

En algunos casos, las inmunoglobulinas de la presente memoria se pueden dirigirse contra antígenos para el tratamiento de enfermedades infecciosas.

5 Dominios de unión a antígeno

Como apreciarán los expertos en la técnica, existen dos tipos básicos de dominios de unión a antígeno, aquellos que se parecen a los dominios de unión a antígeno de anticuerpo (p. ej., que comprenden un conjunto de 6 CDR) y aquellos que pueden ser ligandos o receptores, por ejemplo, que se unen a dianas sin el uso de CDR.

Anticuerpos modificados

10 Además de las modificaciones descritas anteriormente, se pueden realizar otras modificaciones. Por ejemplo, las moléculas se pueden estabilizar mediante la incorporación de puentes disulfuro que unen los dominios VH y VL (Reiter et al., 1996, Nature Biotech. 14:1239-1245, incorporada en su totalidad como referencia). Además, existe una variedad de modificaciones covalentes de anticuerpos que se pueden realizar como se describe a continuación.

15 Las modificaciones covalentes de los anticuerpos están incluidas dentro del alcance de esta invención, y generalmente, pero no siempre, se realizan después de la traducción. Por ejemplo, se introducen varios tipos de modificaciones covalentes del anticuerpo en la molécula haciendo reaccionar residuos de aminoácidos específicos del anticuerpo con un agente derivatizante orgánico que es capaz de reaccionar con cadenas laterales seleccionadas o los residuos N o C terminales.

20 Los residuos de cisteinilo se hacen reaccionar más comúnmente con α -haloacetatos (y las aminas correspondientes), tales como ácido cloroacético o cloroacetamida, para proporcionar derivados de carboximetilo o carboxiamidometilo. Los residuos de cisteinilo también se pueden derivatizar por reacción con bromotrifluoroacetona, ácido α -bromo- β -(5-imidazolil)propiónico, fosfato de cloroacetilo, N-alquilmaleimidas, disulfuro de 3-nitro-2-piridilo, disulfuro de metil-2-piridilo, p-cloromercurio-benzoato, 2-cloromercurio-4-nitrofenol o cloro-7-nitrobenzo-2-oxa-1,3-diazol y similares.

25 Además, las modificaciones en las cisteínas son particularmente útiles en aplicaciones de productos conjugados de anticuerpo-fármaco (ADC), descritas más adelante. En algunas realizaciones, la región constante de los anticuerpos se puede modificar genéticamente para que contenga una o más cisteínas que sean particularmente "reactivas con tiol", para permitir una colocación más específica y controlada del radical del fármaco. Véase por ejemplo la Patente de Estados Unidos Núm. 7.521.541, incorporada en su totalidad como referencia en la presente memoria.

30 Los residuos de histidilo se derivatizan por reacción con dietilpirocarbonato a pH 5,5-7,0 debido a que este agente es relativamente específico para la cadena lateral de histidilo. El bromuro de para-bromofenacilo también es útil; la reacción se realiza preferiblemente en cacodilato de sodio 0,1 M a pH 6,0.

35 Los residuos de lisinilo y amino terminales se hacen reaccionar con anhídridos de ácido succínico u otros ácidos carboxílicos. La derivatización con estos agentes tiene el efecto de invertir la carga de los residuos de lisinilo. Otros reactivos adecuados para derivatizar residuos que contienen alfa-amino incluyen imidoésteres tales como picolinimidato de metilo; fosfato de piridoxal; piridoxal; cloroborohidruro; ácido trinitrobenzenosulfónico; O-metilisourea; 2,4-pentanodiona; y reacción catalizada por transaminasas con glioxilato.

40 Los residuos de arginilo se modifican por reacción con uno o varios reactivos convencionales, entre ellos fenilglioxal, 2,3-butanodiona, 1,2-ciclohexanodiona y ninhidrina. La derivatización de residuos de arginina requiere que la reacción se realice en condiciones alcalinas debido al alto pKa del grupo funcional guanidina. Además, estos reactivos pueden reaccionar con los grupos de lisina, así como con el grupo épsilon-amino de la arginina.

45 La modificación específica de los residuos de tirosilo se puede realizar, con particular interés en introducir marcadores espectrales en los residuos de tirosilo por reacción con compuestos de diazonio aromáticos o tetranitrometano. Muy comúnmente, el N-acetilimidizol y el tetranitrometano se utilizan para formar especies de O-acetil tirosilo y derivados 3-nitro, respectivamente. Los residuos de tirosilo se yodan utilizando ^{125}I o ^{131}I para preparar proteínas marcadas para su uso en radioinmunoensayos, siendo adecuado el método de cloramina T descrito anteriormente.

50 Los grupos laterales carboxilo (aspartilo o glutamilo) se modifican selectivamente por reacción con carbodiimidas ($\text{R}^1\text{-N}=\text{C}=\text{N-R}^2$), donde R y R' son grupos alquilo opcionalmente diferentes, tales como 1-ciclohexil-3-(2-morfolinil-4-etil)carbodiimida o 1-etil-3-(4-azonia-4,4-dimetilpentil)carbodiimida. Además, los residuos de aspartilo y glutamilo se convierten en residuos de asparraginilo y glutaminilo por reacción con iones de amonio.

La derivación con agentes bifuncionales es útil para el entrecruzamiento de anticuerpos con una matriz o superficie de soporte insoluble en agua para su uso en una variedad de métodos, además de los métodos que se describen a continuación. Los agentes de entrecruzamiento utilizados comúnmente incluyen, p. ej., 1,1-bis(diazoacetil)-2-

feniletano, glutaraldehído, ésteres de N-hidroxisuccinimida, por ejemplo, ésteres con ácido 4-azidosalicílico, imidoésteres homobifuncionales, incluidos ésteres de disuccinimidilo tales como 3,3'-ditiobis(succinimidilpropionato) y maleimidas bifuncionales tales como bis-N-maleimido-1,8-octano. Los agentes de derivatización tales como metil-3-[(p-azidofenil)ditio]propioimidato producen intermedios fotoactivables que son capaces de formar enlaces cruzados en presencia de luz. Alternativamente, las matrices reactivas insolubles en agua, tales como los carbohidratos activados con bromuro de cianógeno y los sustratos reactivos descritos en las Patentes de Estados Unidos Núm. 3.969.287; 3.691.016; 4.195.128; 4.247.642; 4.229.537; y 4.330.440, todas incorporados en su totalidad como referencia, se emplean para la inmovilización de proteínas.

Los residuos de glutaminilo y asparraginilo se desamidán con frecuencia a los residuos de glutamilo y asparrilto correspondientes, respectivamente. Alternativamente, estos residuos se desamidán en condiciones ligeramente ácidas. Cualquiera de las formas de estos residuos cae dentro del alcance de esta invención.

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

Además, como apreciarán los expertos en la técnica, se pueden añadir marcas (incluyendo fluorescentes, enzimáticas, magnéticas, radiactivas, etc.) a los anticuerpos (así como a las otras composiciones de la invención).

Glicosilación

Otro tipo de modificaciones covalentes son las alteraciones en la glicosilación. En otra realización, los anticuerpos descritos en la presente memoria se pueden modificar para que incluyan una o más glicoformas modificadas por ingeniería genética. Por "glicoforma modificada por ingeniería genética", como se emplea en la presente memoria, se entiende una composición de carbohidratos que se ancla covalentemente al anticuerpo, en donde dicha composición de carbohidratos difiere químicamente de la de un anticuerpo parental. Las glicoformas modificadas por ingeniería genética pueden ser útiles para una variedad de propósitos, que incluyen, pero sin limitarse a, mejorar o reducir la función efectora. Una forma preferida de una glicoforma modificado por ingeniería genética es la afucosilación, que se ha demostrado que está correlacionada con un aumento en la función ADCC, presumiblemente a través de una unión más estrecha al receptor Fc γ R11a. En este contexto, "afucosilación" significa que la mayoría del anticuerpo producido en las células anfitrionas está sustancialmente desprovisto de fucosa, p. ej. 90-95-98% de los anticuerpos generados no tienen fucosa apreciable como componente del radical carbohidratado del anticuerpo (generalmente anclado a N297 en la región Fc). Definidos funcionalmente, los anticuerpos afucosilados generalmente exhiben al menos 50% o más de afinidad por el receptor Fc γ R11a.

Los glicoformas modificadas por ingeniería genética pueden generarse mediante una variedad de métodos conocidos en la técnica (Umaña et al., 1999, *Nat Biotechnol* 17:176-180; Davies et al., 2001, *Biotechnol Bioeng* 74:288-294; Shields et al., 2002, *J Biol Chem* 277:26733-26740; Shinkawa et al., 2003, *J Biol Chem* 278:3466-3473; documento US 6.602.684; documento USSN 10/277.370; documento USSN 10/113.929; documento PCT WO 00/61739A1; documento PCT WO 01/29246A1; documento PCT WO 02/31140A1; documento PCT WO 02/30954A1, (Technology Potelligent® [Biowa, Inc., Princeton, NJ]; tecnología de ingeniería de glicosilación GlycoMAb® [Glycart Biotechnology AG, Zürich, Suiza]). Muchas de estas técnicas se basan en el control del nivel de oligosacáridos fucosilados y/o bisecados que están anclados covalentemente a la región Fc, por ejemplo, mediante la expresión de una IgG en varios organismos o líneas celulares, modificados por ingeniería genética o de otro modo (por ejemplo, células CHO Lec-13 o células de hibridoma de rata YB2/0, mediante la regulación de enzimas implicadas en la vía de glicosilación (por ejemplo, FUT8 [α 1,6-fucosiltransferasa] y/o β 1-4-N-acetilglucosaminiltransferasa III [GnTIII]), o modificando carbohidratos después de que se haya expresado la IgG. Por ejemplo, el "anticuerpo modificado por ingeniería genética por azúcar" o "tecnología SEA" de Seattle Genetics funciona mediante la adición de sacáridos modificados que inhiben la fucosilación durante la producción; véase por ejemplo el documento 20090317869, la glicoforma se refiere típicamente a los diferentes carbohidratos u oligosacáridos; así, un anticuerpo puede incluir una glicoforma modificada por ingeniería genética.

Alternativamente, la glicoforma modificada por ingeniería genética puede referirse a la variante de IgG que comprende los diferentes carbohidratos u oligosacáridos. Como se sabe en la técnica, los patrones de glicosilación pueden depender de la secuencia de la proteína (p. ej., la presencia o ausencia de residuos de aminoácidos de glicosilación particulares, discutidos más adelante) o de la célula u organismo anfitrión en el que se produce la proteína. Los sistemas de expresión particulares se discuten a continuación.

La glicosilación de polipéptidos está típicamente ligada a N o ligada a O. Ligada a N se refiere al anclaje del radical carbohidrato a la cadena lateral de un residuo de asparragina. Las secuencias de tri-péptidos asparragina-X-serina y asparragina-X-treonina, donde X es cualquier aminoácido excepto prolina, son las secuencias de reconocimiento para el anclaje enzimático del radical carbohidrato a la cadena lateral de asparragina. Por lo tanto, la presencia de cualquiera de estas secuencias de tri-péptidos en un polipéptido crea un sitio de glicosilación potencial. La glicosilación ligada a O se refiere al anclaje de uno de los azúcares N-acetilgalactosamina, galactosa o xilosa, a un

hidroxiaminoácido, muy comúnmente serina o treonina, aunque también se puede utilizar 5-hidroxiprolina o 5-hidroxilisina.

La adición de sitios de glicosilación al anticuerpo se realiza convenientemente alterando la secuencia de aminoácidos de modo que contenga una o más de las secuencias de tripéptidos descritas anteriormente (para sitios de glicosilación ligados a N). La alteración también puede realizarse mediante la adición o sustitución por uno o más residuos de serina o treonina en la secuencia de partida (para los sitios de glicosilación ligados a O). Para facilitar, la secuencia de aminoácidos del anticuerpo se altera preferiblemente a través de cambios a nivel de ADN, particularmente al mutar el ADN que codifica el polipéptido diana en bases preseleccionadas de modo que se generen codones que se traducirán a los aminoácidos deseados.

Otro medio de aumentar el número de radicales carbohidratos en el anticuerpo es mediante acoplamiento químico o enzimático de glucósidos a la proteína. Estos procedimientos son ventajosos porque no requieren la producción de la proteína en una célula anfitriona que tiene capacidades de glicosilación para la glicosilación ligada a N y O. Dependiendo del modo de acoplamiento utilizado, el azúcar o los azúcares pueden anclarse (a) arginina e histidina, (b) grupos carboxilo libres, (c) grupos sulfhidrilo libres tales como los de cisteína, (d) grupos hidroxilo libres tales como los de serina, treonina o hidroxiprolina, (e) residuos aromáticos tales como los de fenilalanina, tirosina o triptófano, o (f) el grupo amida de glutamina. Estos métodos son descritos en el documento WO 87/05330 y por Aplin y Wriston, 1981, en CRC Crit. Rev. Biochem., pág. 259-306.

La eliminación de radicales carbohidrato presentes en el anticuerpo de partida (p. ej., postraduccionalmente) se puede realizar química o enzimáticamente. La desglicosilación química requiere la exposición de la proteína al compuesto ácido trifluorometanosulfónico, o un compuesto equivalente. Este tratamiento da como resultado la escisión de la mayoría o de todos los azúcares, excepto el azúcar de enlace (N-acetilglucosamina o N-acetilgalactosamina), dejando el polipéptido intacto. La desglicosilación química es descrita por Hakimuddin et al., 1987, Arch. Biochem. Biophys 259:52 y por Edge et al., 1981, Anal. Biochem. 118:131. La escisión enzimática de los radicales carbohidrato en los polipéptidos se puede lograr mediante el uso de una variedad de endo- y exoglicosidasas como describen Thotakura et al., 1987, en Meth. Enzymol 138:350, incorporada en su totalidad como referencia. La glicosilación en sitios potenciales de glicosilación se puede prevenir mediante el uso del compuesto tunicamicina como describen Duskin et al., 1982, en J. Biol. Chem 257:3105. La tunicamicina bloquea la formación de enlaces proteína-N-glucósido.

Otro tipo de modificación covalente del anticuerpo comprende la unión del anticuerpo a varios polímeros no proteicos, que incluyen, pero no se limitan a, diversos polioles tales como polietilenglicol, polipropilenglicol o polioxialquilenos, de la manera establecida, por ejemplo, en 2005-2006 PEG Catálogo de Nektar Therapeutics (disponible en el sitio web de Nektar) Patentes de Estados Unidos Núm. 4.640.835; 4.496.689; 4.301.144; 4.670.417; 4.791.192 o 4.179.337. Además, como se sabe en la técnica, las sustituciones de aminoácidos se pueden realizar en varias posiciones dentro del anticuerpo para facilitar la adición de polímeros tales como PEG. Véase por ejemplo, la Publicación de Estados Unidos Núm. 2005/0114037A1.

Variantes de Fc adicionales para funcionalidad adicional

Además de las variantes de aminoácidos para pI, existe una serie de modificaciones de aminoácidos de Fc útiles que se pueden realizar por una variedad de razones, que incluyen, pero sin limitarse a, la alteración de la unión a uno o más receptores FcγR, la alteración de la unión a receptores FcRn, etc.

Por consiguiente, las proteínas de la invención pueden incluir modificaciones de aminoácidos, incluidas las variantes de heterodimerización señaladas en la presente memoria, que incluyen las variantes de pI y las variantes estéricas. Cada conjunto de variantes se puede incluir o excluir independientemente y opcionalmente de cualquier proteína heterodimérica concreta.

Variantes de FcγR

En consecuencia, existe una serie de sustituciones de Fc útiles que se pueden realizar para alterar la unión a uno o más de los receptores FcγR. Las sustituciones que dan como resultado un aumento de la unión así como una disminución de la unión pueden ser útiles. Por ejemplo, se sabe que el aumento de la unión a Fc RIIIa generalmente produce un aumento de la ADCC (citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos; la reacción mediada por células en donde las células citotóxicas inespecíficas que expresan los FcγR reconocen el anticuerpo unido sobre una célula diana y posteriormente causan la lisis de célula diana). De manera similar, la disminución de la unión a FcγRIIb (un receptor inhibidor) también puede ser beneficiosa en algunas circunstancias. Las sustituciones de aminoácidos que encuentran uso en la presente invención incluyen las enumeradas en los documentos USSN 11/124.620 (particularmente la Figura 41), 11/174.287, 11/396.495, 11/538.406. Las variantes particulares que encuentran uso incluyen, pero sin limitarse a, 236A, 239D, 239E, 332E, 332D, 239D/332E, 267D, 267E, 328F, 267E/328F, 236A/332E, 239D/332E/330Y, 239D, 332E/330L, 243A, 243L, 264A, 264V y 299T.

Además, existen sustituciones de Fc adicionales que encuentran uso al aumentar la unión al receptor FcRn y al aumentar la semivida en suero, como se describe específicamente en el documento USSN 12/341.769, incluidas, pero sin limitarse a, 434S, 434A, 428L, 308F, 259I, 428L/434S, 259I/308F, 436I/428L, 436I o V/434S, 436V/428L y

259I/308F/428L.

Conectores

La presente invención proporciona opcionalmente conectores según sea necesario, por ejemplo, en la adición de sitios de unión a antígeno adicionales, como se representa, por ejemplo, en la Figura 2, donde "el otro extremo" de la molécula contiene componentes de unión a antígeno adicionales. Además, como se señala a continuación, los conectores también se utilizan opcionalmente en sistemas de productos conjugados de fármacos con anticuerpos (ADC). Cuando se utiliza para unir los componentes de las construcciones centrales de mAb-Fv, el conector es generalmente un polipéptido que comprende dos o más residuos de aminoácidos unidos por enlaces peptídicos y se utiliza para unir uno o más de los componentes de la presente invención. Tales polipéptidos conectores son bien conocidos en la técnica (véase, p. ej., Holliger, P. et al. (1993) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90:6444-6448; Poljak, R. J. et al. (1994) *Structure* 2:1121-1123). Una variedad de conectores puede encontrar uso en algunas realizaciones descritas en la presente memoria. Como apreciarán los expertos en la técnica, existen al menos tres tipos de conectores diferentes utilizados en la presente invención.

En la presente memoria, "conector" también se denomina "secuencia conectora", "espaciador", "secuencia de anclaje" o equivalentes gramaticales de los mismos. También se conocen conectores homo- o heterobifuncionales (véase el catálogo de 1994 de Pierce Chemical Company, sección técnica sobre entrecruzadores, páginas 155-200). Se pueden utilizar varias estrategias para unir covalentemente moléculas entre sí. Estas incluyen, pero no se limitan a conexiones de polipéptidos entre los extremos N y C de proteínas o dominios de proteínas, conexiones a través de enlaces disulfuro y conexiones a través de reactivos químicos de entrecruzamiento. En un aspecto de esta realización, el conector es un enlace peptídico, generado por técnicas recombinantes o síntesis de péptidos. El péptido conector puede incluir predominantemente los siguientes residuos de aminoácidos: Gly, Ser, Ala o Thr. El péptido conector debería tener una longitud adecuada para unir dos moléculas de tal manera que asuman la conformación correcta entre sí para que retengan la actividad deseada. En una realización, el conector tiene una longitud de aproximadamente 1 a 50 aminoácidos, preferiblemente de aproximadamente 1 a 30 aminoácidos. En una realización, se pueden utilizar conectores de 1 a 20 aminoácidos de longitud. Los conectores útiles incluyen polímeros de glicina-serina, que incluyen, por ejemplo, (GS)_n, (GSGGS)_n, (GGGGS)_n y (GGGS)_n, donde n es un número entero de al menos uno, polímeros de glicina-alanina, polímeros de alanina-serina y otros conectores flexibles. Alternativamente, se puede utilizar como conectores una variedad de polímeros no proteicos, que incluyen pero no se limitan a polietilenglicol (PEG), polipropilenglicol, polioxialquilenos o copolímeros de polietilenglicol y polipropilenglicol, es decir, pueden encontrar uso como conectores.

Otras secuencias conectoras pueden incluir cualquier secuencia de cualquier longitud del dominio CL/CH1 pero no todos los residuos del dominio CL/CH1; por ejemplo, los primeros 5-12 residuos de aminoácidos de los dominios CL/CH1. Los conectores se pueden obtener de la cadena ligera de inmunoglobulina, por ejemplo C_κ o C_λ. Los conectores se pueden obtener de cadenas pesadas de inmunoglobulina de cualquier isotipo, que incluyen, por ejemplo, C_γ1, C_γ2, C_γ3, C_γ4, C_α1, C_α2, C_δ, C_ε y C_μ. Las secuencias conectoras también se pueden obtener de otras proteínas tales como proteínas similares a Ig (p. ej., TCR, FcR, KIR), secuencias derivadas de la región bisagra y otras secuencias naturales de otras proteínas.

Productos conjugados de Anticuerpo-fármaco

En algunas realizaciones, los anticuerpos multiespecíficos de la invención se conjugan con fármacos para formar productos conjugados de anticuerpo-fármaco (ADC). En general, los ADC se utilizan en aplicaciones de oncología, donde el uso de los productos conjugados de anticuerpo-fármaco para el suministro local de agentes citotóxicos o citostáticos permite el suministro dirigido del radical de fármaco a los tumores, lo que puede permitir una mayor eficacia, menor toxicidad, etc. Ducry et al., en *Bioconjugate Chem.*, 21: 5-13 (2010), Carter et al., en *Cancer J.* 14(3):154 (2008) y Senter, en *Current Opin. Chem Biol.* 13:235-244 (2009) proporciona una visión de conjunto de esta tecnología.

Así, la invención proporciona anticuerpos multiespecíficos conjugados con fármacos. En general, la conjugación se realiza mediante anclaje covalente al anticuerpo, como se describe adicionalmente más adelante, y generalmente se basa en un conector, a menudo una conexión peptídica (que, como se describe a continuación, se puede diseñar para que sea sensible a la escisión por proteasas en el sitio diana o no). Además, como se describió anteriormente, la conexión de la unidad de conector-fármaco (LU-D) se puede realizar mediante el anclaje a cisteínas dentro del anticuerpo. Como apreciarán los expertos en la técnica, el número de radicales de fármaco por anticuerpo puede cambiar, dependiendo de las condiciones de la reacción, y puede variar de 1:1 a 10:1 de fármaco:anticuerpo. Como apreciarán los expertos en la técnica, el número real es un promedio.

Así, la invención proporciona anticuerpos multiespecíficos conjugados con fármacos. Como se describe a continuación, el fármaco del ADC puede ser cualquier número de agentes, incluidos, pero sin limitarse a, agentes citotóxicos tales como agentes quimioterapéuticos, agentes inhibidores del crecimiento, toxinas (por ejemplo, una toxina enzimáticamente activa de origen bacteriano, fúngico, vegetal o animal, o fragmentos de la misma), o se proporciona un isótopo radiactivo (es decir, un producto radioconjugado). En otras realizaciones, la invención proporciona adicionalmente métodos para utilizar los ADC.

Los fármacos para su uso en la presente invención incluyen fármacos citotóxicos, particularmente aquellos que se utilizan para terapia contra el cáncer. Tales fármacos incluyen, en general, agentes que dañan el ADN, antimetabolitos, productos naturales y sus análogos. Las clases ilustrativas de agentes citotóxicos incluyen los inhibidores enzimáticos tales como los inhibidores de la dihidrofolato reductasa y los inhibidores de la timidilato sintasa, los intercaladores de ADN, los cortadores de ADN, los inhibidores de la topoisomerasa, la familia de fármacos de antraciclina, los fármacos de vinca, las mitomicinas, las bleomicinas, los nucleósidos citotóxicos, la familia de fármacos pteridina, diinenos, podofilotoxinas, dolastatinas, maitansinoides, inductores de diferenciación y taxoles.

Los miembros de estas clases incluyen, por ejemplo, metotrexato, metopreterina, diclorometotrexato, 5-fluorouracilo, 6-mercaptopurina, arabinósido de citosina, melfalán, leurosina, leurosideína, actinomicina, daunorrubicina, doxorubicina, mitomicina C, mitomicina A, carminomicina, aminopterina, talisomicina, podofilotoxina, y derivados de podofilotoxina, tales como etopósido o fosfato de etopósido, vinblastina, vincristina, vindesina, taxanos que incluyen taxol, taxótero, ácido retinoico, ácido butírico, N8-acetil espermidina, camptotecina, caliqueamicina, esperamicina, enerinas, duocarmicina A, duocarmicina SA, caliqueamicina, captotecina, maitansinoides (incluido DM1), monometilauristatina E (MMAE), monometilauristatina F (MMAF) y maitansinoides (DM4) y sus análogos.

Las toxinas se pueden utilizar como productos conjugados de anticuerpo-toxina e incluyen toxinas bacterianas tales como la toxina de la difteria, toxinas vegetales tales como la ricina, toxinas de moléculas pequeñas tales como geldanamicina (Mandler et al. (2000) J. Nat. Cáncer Inst. 92(19):1573-1581; Mandler et al (2000) Bioorganic & Med. Chem Letters 10:1025-1028; Mandler et al (2002) Bioconjugate Chem. 13:786-791), maitansinoides (documento EP 1391213; Liu et al., (1996) Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623) y caliqueamicina (Lode et al (1998) Cancer Res. 58:2928; Hinman et al (1993) Cancer Res. 53:3336-3342). Las toxinas pueden ejercer sus efectos citotóxicos y citostáticos mediante mecanismos que incluyen la unión a tubulina, la unión ADN o la inhibición de la topoisomerasa.

Se contemplan los productos conjugados de un anticuerpo multiespecífico y una o más toxinas de molécula pequeña, tales como maitansinoides, dolastatinas, auristatinas, un tricoteceno, caliqueamicina y CC1065, y los derivados de estas toxinas que tienen actividad como toxina.

Maitansinoides

Los compuestos de maitansina adecuados para su uso como radicales de fármacos maitansinoides son bien conocidos en la técnica y se pueden aislar de fuentes naturales de acuerdo con métodos conocidos, producidos utilizando técnicas de ingeniería genética (véase Yu et al., (2002) PNAS 99:7968-7973), o maitansinol y análogos de maitansinol preparados sintéticamente de acuerdo con métodos conocidos. Como se describe a continuación, los fármacos se pueden modificar mediante la incorporación de un grupo funcionalmente activo tal como un grupo tiol o amina para la conjugación con el anticuerpo.

Los radicales de fármaco maitansinoide ilustrativos incluyen aquellos que tienen un anillo aromático modificado, tal como: C-19-descloro (Patente de Estados Unidos Núm. 4.256.746) (preparado por reducción de hidruro de litio y aluminio de ansamitocina P2); C-20-hidroxi (o C-20-desmetil) +/- C-19-descloro (Patentes de Estados Unidos Núm. 4.361.650 y 4.307.016) (preparado por desmetilación con Streptomyces o Actinomyces o descloración con LAH); y C-20-desmetoxi, C-20-aciloxi (--OCOR), +/- descloro (Patente de Estados Unidos Núm. 4.294.757) (preparado por acilación con cloruros de acilo) y aquellos que tienen modificaciones en otras posiciones.

Los radicales de fármacos maitansinoides ejemplares también incluyen aquellos que tienen modificaciones tales como: C-9-SH (Patente de Estados Unidos Núm. 4.424.219) (preparado por la reacción de maitansinol con H₂S o P₂S₅); C-14-alcoximetilo (desmetoxi/CH₂OR) (Patente de Estados Unidos Núm. 4.331.598); C-14-hidroximetilo o aciloximetilo (CH₂OH o CH₂OAc) (Patente de Estados Unidos Núm. 4.450.254) (preparado a partir de Nocardina); C-15-hidroxi/aciloxi (Patente de Estados Unidos Núm. 4.364.866) (preparado por la conversión de maitansinol por Streptomyces); C-15-metoxi (Patentes de Estados Unidos Núm. 4.313.946 y 4.315.929) (aislado de Trewia nudiflora); C-18-N-desmetilo (Patentes de Estados Unidos Núm. 4.362.663 y 4.322.348) (preparado por desmetilación de maitansinol por Streptomyces); y 4,5-desoxi (Patente de Estados Unidos Núm. 4.371.533) (preparado por reducción de tricloruro de titanio/LAH de maitansinol).

De uso particular son DM1 (descrito en la Patente de Estados Unidos Núm. 5.208.020 y DM4 (descrito en la Patente de Estados Unidos Núm. 7.276.497. Véase también una serie de derivados maitansinoides y métodos adicionales en los documentos 5.416.064, WO/01/24763, 7.303.749, 7.601.354, USSN 12/631.508, WO02/098883, 6.441.163, 7.368.565, WO02/16368 y WO04/1033272.

Los ADC que contienen maitansinoides, los métodos para fabricarlos y su uso terapéutico se describen, por ejemplo, en las Patentes de Estados Unidos Núm. 5.208.020; 5.416.064; 6.441.163 y la Patente Europea EP 0 425 235 B1. Liu et al., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 93:8618-8623 (1996) describieron los ADC que comprenden un maitansinoide designado DM1 unido al anticuerpo monoclonal C242 dirigido contra el cáncer colorrectal humano. Se encontró que el producto conjugado era altamente citotóxico para las células cultivadas de cáncer de colon y mostró actividad antitumoral en un ensayo de crecimiento tumoral in vivo.

Chari et al., Cancer Research 52:127-131 (1992) describen los ADC en los que se conjugó un maitansinoide a través

de un conector disulfuro al anticuerpo murino A7 que se une a un antígeno en las líneas celulares de cáncer de colon humano, o a otro anticuerpo monoclonal murino TA.1 que se une al oncogén HER-2/neu. La citotoxicidad del producto conjugado TA.1-maitansinoide se probó in vitro en la línea celular de cáncer de mama humano SK-BR-3, que expresa 3x10⁵ antígenos de superficie HER-2 por célula. El producto conjugado del fármaco alcanzó un grado de citotoxicidad similar al del fármaco maitansinoide libre, que se podría incrementar al aumentar el número de moléculas de maitansinoide por molécula de anticuerpo. El producto conjugado de A7-maitansinoide mostró baja citotoxicidad sistémica en ratones.

Auristatinas y Dolastatinas

En algunas realizaciones, el ADC comprende un anticuerpo multiespecífico conjugado con dolastatinas o análogos peptídicos y derivados de dolostatina, auristatinas (Patentes de Estados Unidos Núm. 5.635.483; 5.780.588). Se ha demostrado que las dolastatinas y las auristatinas interfieren en la dinámica de los microtúbulos, la hidrólisis de GTP y la división nuclear y celular (Woyke et al (2001) Antimicrob. Agents and Chemother. 45(12):3580-3584) y tienen actividad anticancerosa (Patente de Estados Unidos Núm. 5.663.149) y antifúngica (Pettit et al (1998) Antimicrob. Agents Chemother. 42:2961-2965). El radical de fármaco dolastatina o auristatina se puede anclar al anticuerpo a través del extremo N (amino) o del extremo C (carboxilo) del radical del fármaco peptídico (documento WO 02/088172).

Las realizaciones ilustrativas de auristatina incluyen los radicales de fármaco de monometilauristatina conectados al extremo N DE y DF, descritos en "Senter et al, Proceedings of the American Association for Cancer Research, Volumen 45, Número de Resumen 623, presentado el 28 de marzo, 2004 y descrito en la Publicación de Patente de Estados Unidos Núm. 2005/0238648.

Una realización ilustrativa de auristatina es MMAE (véase la Patente de Estados Unidos Núm. 6.884.869).

Otra realización ilustrativa de auristatina es MMAF (véanse los documentos US 2005/0238649, 5.767.237 y 6.124.431, incorporados expresamente como referencia en su totalidad).

Otras realizaciones ilustrativas que comprenden MMAE o MMAF y diversos componentes conectores (descritos adicionalmente en la presente memoria) tienen las siguientes estructuras y abreviaturas (en donde Ab significa anticuerpo y p es de 1 a aproximadamente 8):

Típicamente, los radicales de fármaco basados en péptidos se pueden preparar formando un enlace peptídico entre dos o más aminoácidos y/o fragmentos de péptidos. Tales enlaces peptídicos se pueden preparar, por ejemplo, de acuerdo con el método de síntesis en fase líquida (véase E. Schroder y K. Lubke, "The Peptides", volumen 1, pág. 76-136, 1965, Academic Press) que es bien conocido en el campo de la química de péptidos. Los radicales de fármaco de auristatina/dolastatina se pueden preparar según los métodos de: la Patente de Estados Unidos Núm. 5.635.483; la Patente de Estados Unidos Núm. 5.780.588; Pettit et al. (1989) J. Am. Chem Soc. 111:5463-5465; Pettit et al (1998) Anti-Cancer Drug Design 13:243-277; Pettit, G. R. et al. Synthesis, 1996, 719-725; Pettit et al. (1996) J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1 5:859-863; y Doronina (2003) Nat Biotechnol 21 (7):778-784.

Caliqueamicina

En otras realizaciones, el ADC comprende un anticuerpo de la invención conjugado con una o más moléculas de caliqueamicina. Por ejemplo, Mylotarg es el primer fármaco comercial ADC y utiliza caliqueamicina γ 1 como carga útil (véase la Patente de Estados Unidos Núm. 4.970.198). Los derivados adicionales de caliqueamicina se describen en las Patentes de Estados Unidos Núm. 5.264.586, 5.384.412, 5.550.246, 5.739.116, 5.773.001, 5.767.285 y 5.877.296. La familia de antibióticos de caliqueamicina es capaz de producir roturas de ADN de doble hebra a concentraciones sub-picomolares. Para la preparación de productos conjugados de la familia de la caliqueamicina, véanse las Patentes de Estados Unidos Núm. 5.712.374, 5.714.586, 5.739.116, 5.767.285, 5.770.701, 5.770.710, 5.773.001, 5.877.296 (todas de American Cyanamid Company). Los análogos estructurales de caliqueamicina que se pueden utilizar incluyen, pero no se limitan a, γ 1I, α 2I, α 2I, N-acetil- γ 1I, PSAG y θ 1I (Hinman et al., Cancer Research 53:3336-3342 (1993), Lode et al., Cancer Research 58:2925-2928 (1998) y las Patentes de Estados Unidos de American Cyanamid mencionadas anteriormente). Otro fármaco antitumoral que se puede conjugar con el anticuerpo es QFA, que es un antifolato. Tanto la caliqueamicina como QFA tienen sitios de acción intracelulares y no cruzan fácilmente la membrana plasmática. Por lo tanto, la absorción celular de estos agentes a través de la internalización mediada por anticuerpos mejora en gran medida sus efectos citotóxicos.

Duocarmicinas

CC-1065 y las duocarmicinas son miembros de una familia de antibióticos antitumorales utilizados en los ADC. Estos antibióticos parecen funcionar a través de ADN con alquilación selectiva de la secuencia en el N3 de la adenina en el surco menor, lo que inicia una cascada de eventos que da como resultado la apoptosis.

Los miembros importantes de las duocarmicinas incluyen la duocarmicina A (Patente de Estados Unidos Núm. 4.923.990, incorporada como referencia) y duocarmicina SA (Patente de Estados Unidos Núm. 5.101.038,) y una gran cantidad de análogos como se describe en las Patentes de Estados Unidos Núm. 7.517.903, 7.691.962,

5.101.038; 5.641.780; 5.187.186; 5.070.092; 5.070.092; 5.641.780; 5.101.038; 5.084.468, 5.475.092, 5.585.499, 5.846.545, el documento WO2007/089149, el documento WO2009/017394A1, 5.703.080, 6.989.452, 7.087.600, 7.129.261, 7.498.302 y 7.507.420.

Otros agentes citotóxicos

5 Otros agentes antitumorales que se pueden conjugar con los anticuerpos de la invención incluyen BCNU, estreptozocina, vincristina y 5-fluorouracilo, la familia de agentes conocida colectivamente como complejo LL-E33288 descrito en las Patentes de Estados Unidos Núm. 5.053.394, 5.770.710, así como las esperamicinas (Patente de Estados Unidos Núm. 5.877.296).

10 Las toxinas enzimáticamente activas y sus fragmentos que se pueden utilizar incluyen la cadena A de la difteria, fragmentos activos no ligantes de la toxina de la difteria, la cadena A de la exotoxina (de *Pseudomonas aeruginosa*), la cadena A de la ricina, la cadena A de la abrina, la cadena A de la modeccina, la alfa-sarcina, las proteínas de *Aleurites fordii*, proteínas diantinas, proteínas de *Phytolaca americana* (PAPI, PAPII y PAP-S), inhibidor de *Momordica charantia*, curcina, crotina, inhibidor de *Saponaria officinalis*, gelonina, mitogelina, restrictocina, fenomicina, enomicina y los tricotecenos. Véase, por ejemplo, el documento WO 93/21232 publicado en 28 de octubre de 1993.

La presente invención contempla adicionalmente un ADC formado entre un anticuerpo y un compuesto con actividad nucleolítica (p. ej., una ribonucleasa o una endonucleasa de ADN tal como una desoxirribonucleasa; ADNasa).

20 Para la destrucción selectiva del tumor, el anticuerpo puede comprender un átomo altamente radiactivo. Una variedad de isótopos radiactivos está disponibles para la producción de anticuerpos radioconjugados. Los ejemplos incluyen At211, I131, I125, Y90, Re186, Re188, Sm153, Bi212, P32, Pb212 e isótopos radiactivos de Lu.

25 Las radiomarcas u otras marcas se pueden incorporar al producto conjugado de manera conocida. Por ejemplo, el péptido se puede biosintetizar o se puede sintetizarse mediante síntesis química de aminoácidos utilizando precursores de aminoácidos adecuados que implican, por ejemplo, flúor-19 en lugar de hidrógeno. Las marcas tales como Tc99m o I123, Re186, Re188 e In111 se pueden anclar a través de un residuo de cisteína en el péptido. El itrio-90 se puede anclar a través de un residuo de lisina. Se puede utilizar el método IODOGEN (Fraker et al (1978) *Biochem. Biophys Res. Commun.* 80:49-57 para incorporar yodo-123. "Monoclonal Antibodies in Immunoscintigraphy" (Chatal, CRC Press 1989) describe otros métodos en detalle.

30 Para composiciones que comprenden una pluralidad de anticuerpos, la carga de fármaco está representada por p, el número promedio de moléculas de fármaco por anticuerpo. La carga de fármaco puede variar de 1 a 20 fármacos (D) por Anticuerpo. El número promedio de fármacos por anticuerpo en la preparación de reacciones de conjugación se puede caracterizar por medios convencionales tales como espectroscopía de masas, ensayo ELISA y HPLC. La distribución cuantitativa de los Productos Conjugados de Anticuerpo-Fármaco en términos de p también se puede determinar.

35 En algunos casos, la separación, la purificación y la caracterización de productos conjugados de Anticuerpo-Fármaco homogéneos donde p es un cierto valor de Producto Conjugado de Anticuerpo-Fármaco con otras cargas de fármaco se pueden lograr por medios tales como HPLC de fase inversa o electroforesis. En realizaciones ilustrativas, p es 2, 3, 4, 5, 6, 7 u 8 o una fracción de los mismos.

40 La generación de compuestos conjugados de Anticuerpo-fármaco se puede lograr mediante cualquier mecanismo conocido por el experto en la técnica. Brevemente, los compuestos conjugados de Anticuerpo-fármaco pueden incluir un anticuerpo multiespecífico como unidad de Anticuerpo, un fármaco, y opcionalmente un conector que une el fármaco y el agente de unión.

45 Se encuentran disponibles varias reacciones diferentes para el anclaje covalente de fármacos y/o conectores a agentes de unión. Esto se puede lograr mediante la reacción de los residuos de aminoácido del agente de unión, por ejemplo, la molécula de anticuerpo, incluidos los grupos amina de la lisina, los grupos ácido carboxílico libres del ácido glutámico y aspártico, los grupos sulfhidrilo de la cisteína y los diversos radicales de los aminoácidos aromáticos. Un método no específico de anclaje covalente comúnmente utilizado es la reacción de carbodiimida para conectar un grupo carboxi (o amino) de un compuesto con grupos amino (o carboxi) del anticuerpo. Además, se han utilizado agentes bifuncionales tales como dialdehídos o imidoésteres para conectar el grupo amino de un compuesto a los grupos amino de una molécula de anticuerpo.

50 También está disponible para el anclaje de fármacos a agentes de unión la reacción de bases de Schiff. Este método implica la oxidación del peryodato de un fármaco que contiene grupos glicol o hidroxilo, formando así un aldehído que a continuación reacciona con el agente de unión. El anclaje se produce mediante la formación de una base de Schiff con grupos amino del agente de unión. Los isotiocianatos también se pueden utilizar como agentes de acoplamiento para anclar covalentemente fármacos a agentes de unión. Los expertos en la técnica conocen otros mecanismos y están dentro del alcance de la presente invención.

55 En algunas realizaciones, un intermedio, que es el precursor del conector, se hace reaccionar con el fármaco en

condiciones apropiadas. En otras realizaciones, se utilizan grupos reactivos en el fármaco y/o el intermedio. El producto de la reacción entre el fármaco y el intermedio, o el fármaco derivatizado, se hace reaccionar posteriormente con un anticuerpo multispecífico de la invención en condiciones apropiadas.

- 5 Se entenderá que también se pueden llevar a cabo modificaciones químicas en el compuesto deseado para hacer que las reacciones de ese compuesto sean más convenientes para los propósitos de preparación de los productos conjugados de la invención. Por ejemplo, un grupo funcional, p. ej. amina, hidroxilo o sulfhidrilo se puede adjuntar al fármaco en una posición que tenga un efecto mínimo o aceptable sobre la actividad u otras propiedades del fármaco.

Unidades conectoras de ADC

- 10 Típicamente, los compuestos conjugados de anticuerpo-fármaco comprenden una unidad conectora entre la unidad de fármaco y la unidad de anticuerpo. En algunas realizaciones, el conector es escindible en condiciones intracelulares o extracelulares, de modo que la escisión del conector libera la unidad de fármaco del anticuerpo en el entorno apropiado. Por ejemplo, los tumores sólidos que secretan ciertas proteasas pueden servir como el diana del conector escindible; en otras realizaciones, son las proteasas intracelulares las que se utilizan. En otras realizaciones más, la unidad conectora no es escindible y el fármaco se libera, por ejemplo, por degradación de anticuerpos en lisosomas.

- 15 En algunas realizaciones, el conector es escindible por un agente de escisión que está presente en el entorno intracelular (por ejemplo, dentro de un lisosoma o endosoma o caveola). El conector puede ser, por ejemplo, un conector de peptidilo que es escindido por una peptidasa intracelular o una enzima proteasa, que incluye, pero no se limita a, una proteasa lisosómica o endosómica. En algunas realizaciones, el conector de peptidilo tiene al menos dos aminoácidos de longitud o al menos tres aminoácidos de longitud o más.

- 20 Los agentes de escisión pueden incluir, sin limitación, catepsinas B y D y plasmina, todas las cuales se sabe que hidrolizan derivados de fármacos dipeptídicos que dan como resultado la liberación del fármaco activo dentro de las células diana (véase, p. ej., Dubowchik y Walker, 1999, *Pharm. Therapeutics* 83:67-123). Los conectores de peptidilo son escindibles por enzimas que están presentes en las células que expresan CD38. Por ejemplo, se puede utilizar un conector de peptidilo que es escindible por la proteasa catepsina B dependiente de tiol, que se expresa altamente en el tejido canceroso (p. ej., un conector Phe-Leu o Gly-Phe-Leu-Gly (SEQ ID NO: X)). Se describen otros ejemplos de dichos conectores, p. ej., en la Patente de Estados Unidos Núm. 6.214.345.

- 25 En algunas realizaciones, el conector de peptidilo escindible por una proteasa intracelular es un conector Val-Cit o un conector Phe-Lys (véase, p. ej., la Patente de Estados Unidos Núm. 6.214.345, que describe la síntesis de doxorubicina con el conector val-cit).

- 30 En otras realizaciones, el conector escindible es sensible al pH, es decir, sensible a la hidrólisis a ciertos valores de pH. Típicamente, el conector sensible al pH es hidrolizable en condiciones ácidas. Por ejemplo, se puede utilizar un conector lábil frente a los ácidos que sea hidrolizable en el lisosoma (p. ej., una hidrazona, semicarbazona, tiosemicarbazona, amida cis-aconítica, ortoéster, acetal, cetal o similares). (Véanse, p. ej., las Patentes de Estados Unidos Núm. 5.122.368; 5.824.805; 5.622.929; Dubowchik y Walker, 1999, *Pharm. Therapeutics* 83:67-123; Neville et al., 1989, *Biol. Chem* 264:14653-14661). Tales conectores son relativamente estables en condiciones de pH neutro, tales como las de la sangre, pero son inestables a un pH inferior a 5,5 o 5,0, el pH aproximado del lisosoma. En ciertas realizaciones, el conector hidrolizable es un conector tioéter (tal como, p. ej., un tioéter anclado al agente terapéutico a través de un enlace acilhidrazona (véase, p. ej., la Patente de Estados Unidos Núm. 5.622.929).

- 35 En otras realizaciones más, el conector es escindible en condiciones reductoras (por ejemplo, un conector disulfuro). Se conoce una variedad de enlaces disulfuro en la técnica, que incluyen, por ejemplo, los que se pueden formar utilizando SATA (N-succinimidil-5-acetiltioacetato), SPDP (N-succinimidil-3-(2-piridilditio)propionato), SPDB (N-succinimidil-3-(2-piridilditio)butirato) y SMPT (N-succinimidil-oxicarbonil-alfa-metil-alfa-(2-piridil-ditio)tolueno)-, SPDB y SMPT. (Véanse, p. ej., Thorpe et al., 1987, *Cancer Res.* 47:5924-5931; Wawrzynczak et al., In *Immunoconjugates: Antibody Conjugates in Radioimager and Therapy of Cancer* (C. W. Vogel ed., Oxford U. Press, 1987. Véase también la Patente de Estados Unidos Núm. 4.880.935).

- 40 En otras realizaciones, el conector es un conector de malonato (Johnson et al., 1995, *Anticancer Res.* 15:1387-93), un conector de maleimidobenzoilo (Lau et al., 1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10):1299-1304) o un análogo de 3'-N-amida (Lau et al., 1995, *Bioorg-Med-Chem.* 3(10):1305-12).

- 45 En otras realizaciones más, la unidad conectora no es escindible y el fármaco se libera por degradación del anticuerpo. (Véase la Publicación de Estados Unidos Núm. 2005/0238649).

- 50 En muchas realizaciones, el conector es autoinmolable. Como se emplea en la presente memoria, el término "espaciador autoinmolable" se refiere a un radical químico bifuncional que es capaz de unir covalentemente dos radicales químicos espaciados en una molécula tripartita estable. Se separará espontáneamente del segundo radical químico si su enlace con el primer radical se escinde. Véanse por ejemplo, los documentos WO 2007059404A2, WO06110476A2, WO05112919A2, WO2010/062171, WO09/017394, WO07/089149, WO 07/018431, WO04/043493 y WO02/083180, que se dirigen a productos conjugados de sustrato escindible por fármaco donde el fármaco y el

sustrato escindible están opcionalmente conectados a través de un conector autoinmolable y todos se incorporan expresamente como referencia.

A menudo, el conector no es sustancialmente sensible al entorno extracelular. Como se emplea en la presente memoria, "no sustancialmente sensible al entorno extracelular", en el contexto de un conector, significa que no más de aproximadamente 20%, 15%, 10%, 5%, 3%, o no más de aproximadamente 1% de los conectores, en una muestra de compuesto conjugado de anticuerpo-fármaco, se escinden cuando el compuesto conjugado anticuerpo-fármaco se presenta en un entorno extracelular (por ejemplo, en plasma).

Se puede determinar si un conector no es sustancialmente sensible al entorno extracelular, por ejemplo, incubando con plasma el compuesto conjugado de anticuerpo-fármaco durante un período de tiempo predeterminado (por ejemplo, 2, 4, 8, 16 o 24 horas) y a continuación cuantificando la cantidad de fármaco libre presente en el plasma.

En otras realizaciones no mutuamente excluyentes, el conector promueve la internalización celular. En ciertas realizaciones, el conector promueve la internalización celular cuando se conjuga con el agente terapéutico (es decir, en el medio del radical conector-agente terapéutico del compuesto conjugado de anticuerpo-fármaco como se describe en la presente memoria). En otras realizaciones más, el conector promueve la internalización celular cuando se conjuga con el compuesto de auristatina y los anticuerpos multiespecíficos de la invención.

Se describe una variedad de conectores ilustrativos que se pueden utilizar con las presentes composiciones y métodos en el documento WO 2004-010957, la Publicación de Estados Unidos Núm. 2006/0074008, la Publicación de Estados Unidos Núm. 20050238649 y la Publicación de Estados Unidos Núm. 2006/0024317.

Carga de fármaco

La carga de fármaco está representada por p y es el número promedio de radicales de Fármaco por anticuerpo en una molécula. La carga de fármaco (" p ") puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 o más radicales (D) por anticuerpo, aunque con frecuencia el número promedio es una fracción o un decimal. En general, la carga de fármaco de 1 a 4 es frecuentemente útil, y de 1 a 2 también es útil. Los ADC de la invención incluyen colecciones de anticuerpos conjugados con un intervalo de radicales de fármaco, de 1 a 20. El número promedio de radicales de fármaco por anticuerpo en preparaciones de ADC a partir de reacciones de conjugación se puede caracterizar por medios convencionales tales como espectroscopía de masas y ensayo ELISA.

También se puede determinar la distribución cuantitativa de ADC en términos de p . En algunos casos, la separación, purificación y caracterización de ADC homogéneo donde p es un cierto valor de ADC con otras cargas de fármacos se puede lograr por medios tales como electroforesis.

Para algunos productos conjugados de anticuerpo-fármaco, p puede estar limitado por el número de sitios de anclaje sobre el anticuerpo. Por ejemplo, cuando el anclaje es un tiol de cisteína, como en las realizaciones ilustrativas anteriores, un anticuerpo puede tener solo uno o varios grupos tiol de cisteína, o puede tener solo uno o varios grupos tiol suficientemente reactivos a través de los cuales se puede anclar un conector. En ciertas realizaciones, mayor carga de fármaco, p , ej. $p > 5$, puede causar agregación, insolubilidad, toxicidad o pérdida de la permeabilidad celular de ciertos productos conjugados de anticuerpo-fármaco. En ciertas realizaciones, la carga de fármaco para un ADC de la invención varía de 1 a aproximadamente 8; de aproximadamente 2 a aproximadamente 6; de aproximadamente 3 a aproximadamente 5; de aproximadamente 3 a aproximadamente 4; de aproximadamente 3,1 a aproximadamente 3,9; de aproximadamente 3,2 a aproximadamente 3,8; de aproximadamente 3,2 a aproximadamente 3,7; de aproximadamente 3,2 a aproximadamente 3,6; de aproximadamente 3,3 a aproximadamente 3,8; o de aproximadamente 3,3 a aproximadamente 3,7. De hecho, se ha demostrado que para ciertos ADC, la proporción óptima de radicales de fármaco por anticuerpo puede ser inferior a 8 y puede ser de aproximadamente 2 a aproximadamente 5. Véase el documento US 2005-0238649 A1.

En ciertas realizaciones, se conjugan con un anticuerpo menos del máximo teórico de radicales de fármaco durante una reacción de conjugación. Un anticuerpo puede contener, por ejemplo, residuos de lisina que no reaccionan con el intermedio de fármaco-conector o reactivo conector, como se discute a continuación. En general, los anticuerpos no contienen muchos grupos tiol de cisteína libres y reactivos que se puedan conectar a un radical de fármaco; de hecho, la mayoría de los residuos de tiol de cisteína en los anticuerpos existen como puentes disulfuro. En ciertas realizaciones, un anticuerpo se puede reducir con un agente reductor tal como ditioneitol (DTT) o tricarboniletilfosfina (TCEP), en condiciones reductoras parciales o totales, para generar grupos tiol de cisteína reactivos. En ciertas realizaciones, un anticuerpo se somete a condiciones desnaturizantes para revelar grupos nucleófilos reactivos tales como lisina o cisteína.

La carga (razón fármaco/anticuerpo) de un ADC se puede controlar de diferentes maneras, *p. ej.*: (i) limitando el exceso molar de intermedio de fármaco-conector o reactivo conector con respecto al anticuerpo, (ii) limitando el tiempo o la temperatura de la reacción de conjugación, (iii) limitando parcialmente las condiciones reductoras para la modificación de tiol de cisteína, (iv) modificando genéticamente mediante técnicas recombinantes la secuencia de aminoácidos del anticuerpo de tal manera que el número y la posición de los residuos de cisteína se modifique para controlar el número y/o la posición de adjuntos de fármacos conectores (tales como thioMab o thioFab preparados como se describe en la presente memoria y en el documento WO2006/034488).

Se debe entender que cuando más de un grupo nucleófilo reacciona con un intermedio de fármaco-conector o reactivo-conector seguido del reactivo de radical de fármaco, el producto resultante es una mezcla de compuestos de ADC con una distribución de uno o más radicales de fármaco anclados a un anticuerpo. El número promedio de fármacos por anticuerpo se puede calcular a partir de la mezcla mediante un ensayo dual de anticuerpos ELISA, que es específico para el anticuerpo y específico para el fármaco. Las moléculas de ADC individuales se pueden identificar en la mezcla mediante espectroscopía de masas y separar mediante HPLC, p. ej. cromatografía de interacción hidrófoba.

En algunas realizaciones, se puede aislar de la mezcla de conjugación un ADC homogéneo con un único valor de carga mediante electroforesis o cromatografía.

Métodos para determinar el efecto citotóxico de los ADC

Se conocen los métodos para determinar si un Fármaco o producto conjugado de Anticuerpo-Fármaco ejerce un efecto citostático y/o citotóxico en una célula. Generalmente, la actividad citotóxica o citostática de un producto conjugado de Anticuerpo-Fármaco se puede medir: exponiendo las células de mamífero que expresan una proteína diana del producto conjugado de Anticuerpo-Fármaco en un medio de cultivo celular; cultivando las células durante un período de aproximadamente 6 horas a aproximadamente 5 días; y midiendo la viabilidad celular. Los ensayos in vitro basados en células se pueden utilizar para medir la viabilidad (proliferación), la citotoxicidad y la inducción de apoptosis (activación de caspasa) del producto conjugado de Anticuerpo-Fármaco.

Para determinar si un producto conjugado de Anticuerpo-Fármaco tiene un efecto citostático, se puede utilizar un ensayo de incorporación de timidina. Por ejemplo, las células cancerosas que expresan un antígeno diana a una densidad de 5.000 células/pocillo de una placa de 96 pocillos se pueden cultivar durante un período de 72 horas y exponer a 0,5 μ Ci de 3H-timidina durante las últimas 8 horas del período de 72 horas. La incorporación de 3H-timidina a las células del cultivo se mide en presencia y ausencia del producto conjugado de Anticuerpo-Fármaco.

Para determinar la citotoxicidad, se puede medir la necrosis o apoptosis (muerte celular programada). La necrosis suele ir acompañada de una mayor permeabilidad de la membrana plasmática; hinchazón de la célula y ruptura de la membrana plasmática. La apoptosis se caracteriza típicamente por la formación de ampollas en la membrana, la condensación del citoplasma y la activación de endonucleasas endógenas. La determinación de cualquiera de estos efectos sobre las células cancerosas indica que un producto conjugado de Anticuerpo-Fármaco es útil en el tratamiento del cáncer.

La viabilidad celular se puede medir determinando en una célula la absorción de un colorante tal como rojo neutro, azul de tripano o azul ALAMAR™ (véase, p. ej., Page et al., 1993, Intl. J. Oncology 3:473-476). En tal ensayo, las células se incuban en medios que contienen el colorante, las células se lavan y el colorante restante, que refleja la absorción celular del colorante, se mide espectrofotométricamente. También se puede utilizar el colorante de unión a proteínas Sulforodamina B (SRB) para medir la citotoxicidad (Skehan et al., 1990, J. Natl. Cáncer Inst. 82:1107-12).

Alternativamente, se utiliza una sal de tetrazolio, tal como MTT, en un ensayo colorimétrico cuantitativo para la supervivencia y proliferación de células de mamíferos mediante la detección de células vivas, pero no muertas (véase, p. ej., Mosmann, 1983, J. Immunol. Methods 65:55-63).

La apoptosis se puede cuantificar midiendo, por ejemplo, la fragmentación del ADN. Existen métodos fotométricos comerciales para la determinación cuantitativa in vitro de la fragmentación del ADN. Los ejemplos de tales ensayos, incluidos TUNEL (que detecta la incorporación de nucleótidos marcados al ADN fragmentado) y los ensayos basados en ELISA, se describen en Biochemica, 1999, núm. 2, págs. 34-37 (Roche Molecular Biochemicals).

La apoptosis también se puede determinar midiendo los cambios morfológicos en una célula. Por ejemplo, al igual que con la necrosis, la pérdida de integridad de la membrana plasmática se puede determinar midiendo la absorción de ciertos colorantes (p. ej., un colorante fluorescente tal como, por ejemplo, naranja de acridina o bromuro de etidio). Un método para medir el número de células apoptóticas ha sido descrito por Duke y Cohen, Current Protocols in Immunology (Coligan et al. Eds., 1992, págs. ej. 3.17.1-3.17.16). Las células también pueden marcarse con un colorante de ADN (p. ej., naranja de acridina, bromuro de etidio o yoduro de propidio) y las células pueden observarse para detectar la condensación y la marginación de la cromatina a lo largo de la membrana nuclear interna. Otros cambios morfológicos que se pueden medir para determinar la apoptosis incluyen, p. ej., condensación citoplasmática, aumento de la formación de ampollas en la membrana y contracción celular.

La presencia de células apoptóticas se puede medir tanto en los compartimientos anclados como en los "flotantes" de los cultivos. Por ejemplo, ambos compartimientos se pueden recoger eliminando el sobrenadante, tratando con tripsina las células ancladas, combinando las preparaciones después de una etapa de lavado por centrifugación (p. ej., 10 minutos a 2000 rpm) y detectando la apoptosis (p. ej., midiendo la fragmentación del ADN). (Véase, p. ej., Piazza et al., 1995, Cancer Research 55:3110-16).

In vivo, se puede evaluar el efecto de una composición terapéutica del anticuerpo multiespecífico de la invención en un modelo animal adecuado. Por ejemplo, se pueden utilizar modelos de cáncer xenogénico, en donde se introducen en animales inmunocomprometidos, tales como ratones desnudos o SCID explantes de cáncer o tejidos de

xenoinjerto pasados (Klein et al., 1997, Nature Medicine 3:402-408). La eficacia se puede medir utilizando ensayos que miden la inhibición de la formación de tumores, la regresión o metástasis tumorales, y similares.

Las composiciones terapéuticas utilizadas en la práctica de los métodos anteriores se pueden formular en composiciones farmacéuticas que comprenden un portador adecuado para el método de suministro deseado. Los portadores adecuados incluyen cualquier material que, cuando se combina con la composición terapéutica, retiene la función antitumoral de la composición terapéutica y generalmente no es reactivo con el sistema inmunitario del paciente. Los ejemplos incluyen, pero sin limitarse a, cualquiera de una serie de portadores farmacéuticos convencionales, tales como soluciones salinas tamponadas con fosfato estériles, agua bacteriostática y similares (véase, en general, Remington's Pharmaceutical Sciences 16^a Edition, A. Osal., Ed., 1980).

Composiciones de anticuerpos para la administración in vivo

Las formulaciones de los anticuerpos utilizados de acuerdo con la presente invención se preparan para el almacenamiento mezclando un anticuerpo que tiene el grado deseado de pureza con portadores, excipientes o estabilizadores farmacéuticamente aceptables opcionales (Remington's Pharmaceutical Sciences 16^a edición, Osol, A. Ed. [1980]), en forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. Los portadores, excipientes o estabilizadores aceptables no son tóxicos para los receptores a las dosis y concentraciones empleadas, e incluyen tampones tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes (tales como cloruro de octadecildimetilbencilamonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, alcohol butílico o bencílico; alquil parabenos tales como metil- o propil-parabeno; catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); polipéptidos de bajo peso molecular (menos de aproximadamente 10 residuos); proteínas, tales como albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparragina, histidina, arginina o lisina; monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos que incluyen glucosa, manosa o dextrinas; agentes quelantes tales como EDTA; azúcares tales como sacarosa, manitol, trehalosa o sorbitol; contraiones formadores de sales tales como sodio; complejos metálicos (p. ej., complejos de Zn-proteína); y/o tensioactivos no iónicos tales como TWEENTM, PLURONICSTM o polietilenglicol (PEG).

La formulación en la presente memoria también puede contener más de un compuesto activo según sea necesario para la indicación particular que se esté tratando, preferiblemente aquellos con actividades complementarias que no se afectan negativamente entre sí. Por ejemplo, puede ser deseable proporcionar anticuerpos con otras especificidades. Alternativamente, o además, la composición puede comprender un agente citotóxico, citocina, agente inhibidor del crecimiento y/o antagonista de molécula pequeña. Tales moléculas están adecuadamente presentes combinadas en cantidades que son eficaces para el propósito pretendido.

Los ingredientes activos también pueden quedar atrapados en microcápsulas preparadas, por ejemplo, mediante técnicas de coacervación o mediante polimerización interfacial, por ejemplo, hidroximetilcelulosa o microcápsulas de gelatina y microcápsulas de poli(metacrilato de metilo), respectivamente, en sistemas de suministro de fármacos coloidales (por ejemplo, liposomas), microesferas de albúmina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en macroemulsiones. Tales técnicas se describen en Remington's Pharmaceutical Sciences 16^a edición, Osol, A. Ed. (1980).

Las formulaciones que se utilizarán para la administración in vivo deben ser estériles, o casi. Esto se logra fácilmente mediante filtración a través de membranas de filtración estériles.

Se pueden preparar preparaciones de liberación sostenida. Los ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el anticuerpo, cuyas matrices están en forma de artículos moldeados, p. ej. películas o microcápsulas. Los ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli(metacrilato de 2-hidroxietilo) o poli(alcohol vinílico)), polilactidas (Patente de Estados Unidos Núm. 3.773.919), copolímeros de ácido L-glutámico y gamma-etil-L-glutamato, etileno-acetato de vinilo no degradable, copolímeros degradables de ácido láctico-ácido glicólico tales como LUPRON DEPOTTM (microesferas inyectables compuestas de copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolida) y ácido poli-D-(-)-3-hidroxibutírico. Mientras que los polímeros tales como el etileno-acetato de vinilo y el ácido láctico-ácido glicólico permiten la liberación de moléculas durante más de 100 días, ciertos hidrogeles liberan proteínas durante períodos de tiempo más cortos.

Cuando los anticuerpos encapsulados permanecen en el organismo durante un tiempo prolongado, se pueden desnaturalizar o agregar como resultado de la exposición a la humedad a 37°C, lo que da como resultado una pérdida de actividad biológica y posibles cambios en la inmunogenicidad. Se pueden idear estrategias racionales para la estabilización dependiendo del mecanismo implicado. Por ejemplo, si se descubre que el mecanismo de agregación es la formación de enlaces S-S intermoleculares a través del intercambio de tiodisulfuro, la estabilización se puede lograr modificando los residuos de sulfhidrilo, liofilizando las soluciones ácidas, controlando el contenido de humedad, utilizando aditivos apropiados y desarrollando composiciones matriciales con polímeros específicos.

Modalidades de administración

Los anticuerpos y agentes quimioterapéuticos de la invención se administran a un sujeto, de acuerdo con métodos

conocidos, tales como la administración intravenosa en forma de bolo o por infusión continua durante un período de tiempo, por vía intramuscular, intraperitoneal, intracerebroespinal, subcutánea, intraarticular, Intrasinoviales, intratecales, orales, tópica o mediante inhalación. Se prefiere la administración intravenosa o subcutánea del anticuerpo.

5 Modalidades de tratamiento

En los métodos de la invención, la terapia se utiliza para proporcionar una respuesta terapéutica positiva con respecto a una enfermedad o afección. Por "respuesta terapéutica positiva" se entiende una mejora en la enfermedad o afección, y/o una mejora en los síntomas asociados con la enfermedad o afección. Por ejemplo, una respuesta terapéutica positiva se referiría a una o más de las siguientes mejoras en la enfermedad: (1) una reducción en el número de células neoplásicas; (2) un aumento en la muerte celular neoplásica; (3) inhibición de la supervivencia de células neoplásicas; (5) inhibición (es decir, desaceleración hasta cierto punto, preferiblemente detención) del crecimiento tumoral; (6) un aumento en la tasa de supervivencia del paciente; y (7) cierto alivio de uno o más síntomas asociados con la enfermedad o afección.

Las respuestas terapéuticas positivas en cualquier enfermedad o afección dadas se pueden determinar mediante criterios de respuesta normalizados específicos para esa enfermedad o afección. La respuesta tumoral se puede evaluar en busca de cambios en la morfología tumoral (es decir, carga tumoral general, tamaño tumoral y similares) utilizando técnicas de escrutinio tales como barrido mediante generación de imágenes de resonancia magnética (IRM), generación de imágenes mediante rayos X, barrido tomográfico computarizado (TC), generación de imágenes por barrido óseo, endoscopia y muestreo de biopsias tumorales, incluida la aspiración de médula ósea (AMO) y el recuento de células tumorales en la circulación.

Además de estas respuestas terapéuticas positivas, el sujeto sometido a terapia puede experimentar el efecto beneficioso de una mejora en los síntomas asociados con la enfermedad.

Por lo tanto, para los tumores de células B, el sujeto puede experimentar una disminución en los llamados síntomas B, es decir, sudores nocturnos, fiebre, pérdida de peso y/o urticaria. Para afecciones premalignas, la terapia con un agente terapéutico multiespecífico puede bloquear y/o prolongar el tiempo antes del desarrollo de una afección maligna relacionada, por ejemplo, desarrollo de mieloma múltiple en sujetos que padecen gammapatía monoclonal de significado incierto (GMSI).

Una mejora en la enfermedad puede caracterizarse como una respuesta completa. Por "respuesta completa" se entiende la ausencia de enfermedad clínicamente detectable con normalización de cualquier estudio radiográfico previamente anormal, médula ósea y líquido cefalorraquídeo (LCR) o proteína monoclonal anormal en el caso del mieloma.

Tal respuesta puede persistir durante al menos 4 a 8 semanas, o a veces 6 a 8 semanas, después del tratamiento de acuerdo con los métodos de la invención. Alternativamente, una mejora en la enfermedad puede clasificarse como una respuesta parcial. Por "respuesta parcial" se entiende al menos un 50% de disminución en toda la carga tumoral medible (es decir, el número de células malignas presentes en el sujeto, o el volumen medido de masas tumorales o la cantidad de proteína monoclonal anormal) en ausencia de nuevas lesiones, que pueden persistir de 4 a 8 semanas o de 6 a 8 semanas.

El tratamiento según la presente invención incluye una "cantidad terapéuticamente efectiva" de los fármacos utilizados. Una "cantidad terapéuticamente efectiva" se refiere a una cantidad efectiva, a las dosis y durante los períodos de tiempo necesarios, para lograr un resultado terapéutico deseado.

Una cantidad terapéuticamente efectiva puede variar de acuerdo con factores como el estado de la enfermedad, la edad, el sexo y el peso del individuo, y la capacidad de los fármacos para provocar una respuesta deseada en el individuo. Una cantidad terapéuticamente efectiva es también aquella en donde los efectos terapéuticamente beneficiosos compensan los efectos tóxicos o perjudiciales del anticuerpo o la porción de anticuerpo.

Una "cantidad terapéuticamente efectiva" para la terapia tumoral también se puede medir por su capacidad para estabilizar la progresión de la enfermedad. La capacidad de un compuesto para inhibir el cáncer puede evaluarse en un sistema modelo animal que predice la eficacia en tumores humanos.

Alternativamente, esta propiedad de una composición puede evaluarse examinando la capacidad del compuesto para inhibir el crecimiento celular o para inducir apoptosis mediante ensayos in vitro conocidos por el experto en la materia. Una cantidad terapéuticamente efectiva de un compuesto terapéutico puede disminuir el tamaño del tumor, o mejorar los síntomas en un sujeto. Un experto habitual en la técnica podría determinar tales cantidades basándose en factores tales como el tamaño del sujeto, la gravedad de los síntomas del sujeto y la composición particular o vía de administración seleccionada.

Los regímenes de dosificación se ajustan para proporcionar la respuesta deseada óptima (p. ej., una respuesta terapéutica). Por ejemplo, se puede administrar un solo bolo, se pueden administrar varias dosis divididas con el tiempo o la dosis se puede reducir o aumentar proporcionalmente según lo indiquen las exigencias de la situación.

terapéutica. Las composiciones parenterales pueden formularse en forma de unidad de dosificación para facilitar la administración y la uniformidad de la dosificación. La forma de unidad de dosificación como se emplea en la presente memoria se refiere a unidades físicamente discretas adecuadas como dosificaciones unitarias para los sujetos a tratar; cada unidad contiene una cantidad predeterminada de compuesto activo calculada para producir el efecto terapéutico deseado en asociación con el vehículo farmacéutico requerido.

La especificación para las formas de unidad de dosificación de la presente invención está dictada por y depende directamente de (a) las características únicas del compuesto activo y el efecto terapéutico particular que se va a lograr, y (b) las limitaciones inherentes en la técnica de combinar tales Un compuesto activo para el tratamiento de la sensibilidad en individuos.

Las dosis eficientes y los regímenes de dosificación para los anticuerpos multiespecíficos utilizados en la presente invención dependen de la enfermedad o afección a tratar y pueden ser determinados por los expertos en la materia.

Un intervalo no limitativo ejemplar para una cantidad terapéuticamente eficaz de un anticuerpo multiespecífico utilizado en la presente invención es de aproximadamente 0,1-100 mg/kg, tal como aproximadamente 0,1-50 mg/kg, por ejemplo aproximadamente 0,1-20 mg/kg, tal como aproximadamente 0.1-10 mg/kg, por ejemplo aproximadamente 0.5, aproximadamente como 0.3, aproximadamente 1 o aproximadamente 3 mg/kg. En otra realización, el anticuerpo se administra en una dosis de 1 mg/kg o más, tal como una dosis de 1 a 20 mg/kg, p. ej. una dosis de 5 a 20 mg/kg, p. ej. una dosis de 8 mg/kg.

Un profesional médico que tenga una habilidad ordinaria en la técnica puede determinar y prescribir fácilmente la cantidad efectiva de la composición farmacéutica requerida. Por ejemplo, un médico o un veterinario podrían comenzar las dosis del fármaco empleado en la composición farmacéutica a niveles inferiores a los requeridos para lograr el efecto terapéutico deseado y aumentar gradualmente la dosis hasta que se logre el efecto deseado.

En una realización, el anticuerpo multiespecífico se administra por infusión en una dosis semanal de 10 a 500 mg/kg, tal como de 200 a 400 mg/kg. Dicha administración puede repetirse, por ejemplo, 1 a 8 veces, tal como 3 a 5 veces. La administración se puede realizar mediante infusión continua durante un período de 2 a 24 horas, tal como de 2 a 12 horas.

En una realización, el anticuerpo multiespecífico se administra mediante infusión continua lenta durante un período prolongado, tal como más de 24 horas, si es necesario para reducir los efectos secundarios, incluida la toxicidad.

En una realización, el anticuerpo multiespecífico se administra en una dosis semanal de 250 mg a 2000 mg, como por ejemplo 300 mg, 500 mg, 700 mg, 1000 mg, 1500 mg o 2000 mg, hasta 8 veces, como de 4 a 6 veces. La administración se puede realizar mediante infusión continua durante un período de 2 a 24 horas, tal como de 2 a 12 horas. Dicho régimen puede repetirse una o más veces según sea necesario, por ejemplo, después de 6 meses o 12 meses. La dosis puede determinarse o ajustarse midiendo la cantidad de compuesto de la presente invención en la sangre tras la administración, por ejemplo, tomando una muestra biológica y utilizando anticuerpos antiidiotípicos que se dirigen a la región de unión a antígeno del anticuerpo multiespecífico.

En una realización adicional, el anticuerpo multiespecífico se administra una vez por semana durante 2 a 12 semanas, tal como durante 3 a 10 semanas, tal como durante 4 a 8 semanas.

En una realización, el anticuerpo multiespecífico se administra mediante terapia de mantenimiento, tal como, por ejemplo, una vez a la semana durante un período de 6 meses o más.

En una realización, el anticuerpo multiespecífico se administra mediante un régimen que incluye una infusión de un anticuerpo multiespecífico seguido de una infusión de un anticuerpo multiespecífico conjugado con un radioisótopo. El régimen puede repetirse, por ejemplo, de 7 a 9 días después.

Como ejemplos no limitantes, el tratamiento de acuerdo con la presente invención se puede proporcionar como una dosis diaria de un anticuerpo en una cantidad de aproximadamente 0.1-100 mg/kg, tal como 0.5, 0.9, 1.0, 1.1, 1.5, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 40, 45, 50, 60, 70, 80, 90 o 100 mg/kg, por día, al menos uno de los días 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25, 26, 27, 28, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39 o 40, o alternativamente, al menos uno de la semana 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19 o 20 después del inicio del tratamiento, o cualquier combinación de los mismos, utilizando dosis únicas o divididas de cada 24, 12, 8, 6, 4 o 2 horas, o cualquier combinación de los mismos.

En algunas realizaciones, la molécula de anticuerpo multiespecífico del mismo se utiliza en combinación con uno o más agentes terapéuticos adicionales, p. ej. Un agente quimioterapéutico. Los ejemplos no limitantes de agentes quimioterapéuticos que dañan el ADN incluyen inhibidores de topoisomerasa I (p. ej., irinotecán, topotecán, camptotecina y análogos o metabolitos de los mismos, y doxorubicina); inhibidores de topoisomerasa II (p. ej., etopósido, tenipósido y daunorrubicina); agentes alquilantes (p. ej. ej., melfalan, clorambucilo, busulfano, tiotepa, ifosfamida, carmustina, lomustina, semustina, estreptozocina, descabazina, metotrexato, mitomicina C y ciclofosfamida); Intercaladores de ADN (p. ej., cisplatino, oxaliplatino y carboplatino); Intercaladores de ADN y

generadores de radicales libres como la bleomicina; y miméticos de nucleósidos (p. ej., 5-fluorouracilo, capecitabina, gemcitabina, fludarabina, citarabina, mercaptopurina, tioguanina, pentostatina e hidroxiurea).

Los agentes quimioterapéuticos que interrumpen la replicación celular incluyen: paclitaxel, docetaxel y análogos relacionados; vincristina, vinblastina y análogos relacionados; talidomida, lenalidomida y análogos relacionados (p. ej., CC-5013 y CC-4047); inhibidores de proteína tirosina quinasa (p. ej., mesilato de imatinib y gefitinib); inhibidores de proteasoma (p. ej., bortezomib); Inhibidores de NF- κ B, incluidos inhibidores de IKB quinasa; anticuerpos que se unen a proteínas sobreexpresadas en cánceres y por lo tanto regulan negativamente la replicación celular (p. ej., trastuzumab, rituximab, cetuximab y bevacizumab); y otros inhibidores de proteínas o enzimas que se sabe que están sobrerregulados, sobreexpresados o activados en cánceres, cuya inhibición regula a la baja la replicación celular.

En algunas realizaciones, los anticuerpos de la invención se pueden utilizar antes, simultáneamente o después del tratamiento con Velcade® (bortezomib).

Todas las referencias citadas se incorporan aquí expresamente por referencia en su totalidad.

Mientras que las realizaciones particulares de la invención se han descrito anteriormente con fines ilustrativos, los expertos en la materia apreciarán que se pueden realizar numerosas variaciones de los detalles sin apartarse de la invención como se describe en las reivindicaciones adjuntas.

Ejemplos

A continuación se proporcionan ejemplos para ilustrar la presente invención. Estos ejemplos no pretenden limitar la presente invención a ninguna aplicación particular o teoría de la operación. Para todas las posiciones de región constante discutidas en la presente invención, la numeración es de acuerdo con el índice EU como en Kabat (Kabat et al., 1991, Secuencias de proteínas de interés inmunológico, 5ª ed., Servicio de salud pública de los Estados Unidos, Institutos nacionales de salud, Bethesda) Los expertos en la técnica de los anticuerpos apreciarán que esta convención consiste en una numeración no secuencial en regiones específicas de una secuencia de inmunoglobulina, lo que permite una referencia normalizada a las posiciones conservadas en las familias de inmunoglobulinas. Por consiguiente, las posiciones de cualquier inmunoglobulina dada según lo definido por el índice EU no corresponderán necesariamente a su secuencia secuencial.

Ejemplo 1. Diseño de sustituciones de carga no nativas para reducir el pI

Las cadenas constantes de anticuerpos se modificaron con un pI inferior mediante sustituciones realizadas mediante ingeniería genética en los dominios constantes. El pI reducido se puede diseñar por ingeniería genética realizando sustituciones de aminoácidos básicos (K o R) por aminoácidos ácidos (D o E), lo que da como resultado la mayor disminución del pI. Las mutaciones de aminoácidos básicos a aminoácidos neutros y de aminoácidos neutros a aminoácidos ácidos también darán lugar a una disminución del pI. Se puede encontrar una lista de valores de pK de aminoácidos en la Tabla 1 de Bjellqvist et al., 1994, Electrophoresis 15: 529-539.

Se elige explorar las sustituciones en las regiones de anticuerpos CH1 (Cy1) y CL (Ckappa o CK) (las secuencias se muestran en la Figura 13) porque, a diferencia de la región Fc, no interactúan con ligandos nativos que afectan las propiedades farmacológicas del anticuerpo. Al decidir qué posiciones mutar, se tuvo en cuenta el entorno circundante y el número de contactos que el aminoácido WT establece con sus vecinos para minimizar el impacto de una sustitución o conjunto de sustituciones sobre la estructura y/o función. La accesibilidad al disolvente o fracción expuesta de cada posición CH1 y CK se calculó utilizando estructuras cristalinas relevantes de dominios Fab de los anticuerpos. Los resultados se muestran en las Figuras 2 y 3 de USSN 13/648,951 para Cy1 y CK respectivamente. El diseño estuvo guiado adicionalmente por el examen de los dominios CH1 y CL para las posiciones que son isotópicas entre los isotipos de inmunoglobulina (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4). Debido a que tales variaciones ocurren naturalmente, se espera que tales posiciones sean susceptibles de sustitución. Basándose en este análisis, se identificaron varias sustituciones que reducen el pI pero que se pronostica que tendrán un impacto mínimo sobre las propiedades biofísicas de los dominios.

Como para todas las proteínas heterodiméricas de la presente memoria, los genes que codifican las cadenas pesada y ligera de los anticuerpos se construyeron en el vector de expresión de mamífero pTT5. El gen de la cadena constante de la IgG1 humana se obtuvo de clones de IMAGEN y se subclonó en el vector pTT5. Los genes VH y VL que codifican los anticuerpos anti-VEGF se sintetizaron comercialmente (Blue Heron Biotechnologies, Bothell WA), y se subclonaron en los vectores que codifican las cadenas constantes CL e IgG1 apropiadas. Las modificaciones de aminoácidos se construyeron utilizando la mutagénesis dirigida al sitio utilizando los métodos de mutagénesis dirigida al sitio QuikChange® (Stratagene, La Jolla CA). Todo el ADN fue secuenciado para confirmar la fidelidad de las secuencias.

Los plásmidos que contenían el gen de la cadena pesada (VH-Cy1-Cy2-Cy3) se cotransfectaron con el plásmido que contenía el gen de la cadena ligera (VL-Ck) en células 293E utilizando llipofectamina (Invitrogen, Carlsbad CA) y se cultivaron en medios FreeStyle 293 (Invitrogen, Carlsbad CA). Después de 5 días de crecimiento, los anticuerpos se purificaron del sobrenadante de cultivo por medio de afinidad de proteína A utilizando la resina MabSelect (GE

Healthcare). Las concentraciones de anticuerpo se determinaron mediante un ensayo de ácido bicinonínico (BCA) (Pierce).

Los mAb con el pl modificados mediante ingeniería genética generalmente se caracterizaron por SDS PAGE en un Bioanalizador Agilent, por cromatografía de exclusión por tamaño (SEC), electroforesis en gel con enfoque isoelectrico (IEF), unión al antígeno por Biacore y calorimetría de barrido diferencial (DSC). Todos los mAb mostraron alta pureza en SDS-PAGE y SEC. Los gels de IEF indicaron que cada variante tenía el punto isoelectrico diseñado. En general, el análisis de unión en Biacore mostró que las variantes de pl modificado por ingeniería genética se unieron al antígeno con una afinidad similar a los anticuerpos parentales, lo que indica que las sustituciones diseñadas no perturbaban la función del mAb. La DSC en las Figuras muestra qué variantes generalmente tenían una alta termoestabilidad.

Se realizaron experimentos farmacocinéticos para determinar la semivida en suero, según corresponda, en ratones B6 que están modificados genéticamente para inactivar la expresión de un gen, homocigotos para FcRn murino y modificados genéticamente para activar la expresión de un gen, heterocigotos para FcRn humano (mFcRn^{-/-}, hFcRn^{+/+}) (Petkova et al., 2006, Int Immunol 18 (12): 1759-69, incorporado como referencia en su totalidad), en la presente memoria denominados ratones hFcRn o hFcRn⁺.

Se administró una única inyección intravenosa de anticuerpo en la vena de la cola (2 mg/kg) a grupos de 4-7 ratones hembra aleatorizados por peso corporal (intervalo de 20-30 g). Se extrajo sangre (~ 50 ul) del plexo orbital en cada punto temporal, se procesó hasta suero y se almacenó a -80°C hasta el análisis. Las concentraciones de anticuerpos se determinaron utilizando un ensayo ELISA. La concentración sérica de anticuerpo se midió utilizando antígeno recombinante como reactivo de captura, y la detección se realizó con anticuerpo anti- kappa humana biotinilado y estreptavidina marcada con europio. Se recogió la señal de fluorescencia resuelta en el tiempo. Los parámetros de PK se determinaron para ratones individuales con un modelo no compartimental utilizando WinNonLin (Pharsight Inc., Mountain View CA). Se utilizaron tiempos nominales y dosis con ponderación uniforme de puntos.

Ejemplo 2. Enfoques de ingeniería genética para la modificación por ingeniería genética del pl de la región constante

La reducción del pl de una proteína o anticuerpo se puede llevar a cabo utilizando una variedad de enfoques. En el nivel más básico, los residuos con un pKa elevado (lisina, arginina y, en cierta medida, histidina) se reemplazan por residuos neutros o negativos, y/o los residuos neutros se reemplazan por residuos con un bajo pKa (ácido aspártico y ácido glutámico). Los reemplazos particulares pueden depender de una variedad de factores, incluyendo la ubicación en la estructura, el papel en la función y la inmunogenicidad.

Debido a que la inmunogenicidad es una preocupación, se pueden hacer esfuerzos para minimizar el riesgo de que una sustitución que disminuya el pl provoque inmunogenicidad. Una forma de minimizar el riesgo consiste en minimizar la carga mutacional de las variantes, es decir, reducir el pl con el menor número de mutaciones. Las mutaciones de intercambio de carga, donde se reemplaza un K, R o H por un D o E, tienen el mayor impacto sobre la reducción del pl, por lo que se prefieren estas sustituciones. Otro enfoque para minimizar el riesgo de inmunogenicidad a la vez que se reduce el pl consiste en utilizar sustituciones de proteínas humanas homólogas. Por lo tanto, para las cadenas constantes de anticuerpos, las diferencias isotópicas entre las subclases de IgG (IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4) proporcionan sustituciones de bajo riesgo. Debido a que el reconocimiento inmunitario se produce a un nivel de secuencia local, es decir, los receptores de células T y MHC II reconocen epítopos de típicamente 9 residuos de longitud, las sustituciones que alteran el pl pueden ir acompañadas de sustituciones isotópicas próximas en la secuencia. De esta manera, los epítopos se pueden extender para que coincidan con un isotipo natural. Tales sustituciones formarían así epítopos que estarían presentes en otros isotipos de IgG humanas, y por lo tanto se esperaría que fueran toleradas.

Un enfoque para la modificación por ingeniería genética del pl consiste en utilizar el cambio de isotipo, como se describe en la presente memoria.

Otro enfoque para disminuir el pl por ingeniería genética en proteínas y anticuerpos consiste en fusionar residuos cargados negativamente a los extremos N o C. Así, por ejemplo, los péptidos que consisten principalmente en ácidos aspárticos y ácido glutámico se pueden fusionar al extremo N o al extremo C de la cadena pesada, cadena ligera del anticuerpo, o ambas. Debido a que los extremos N están estructuralmente cerca del sitio de unión al antígeno, se prefieren los extremos C.

Basándose en los enfoques de ingeniería genética descritos, se diseñaron varias variantes para alterar el punto isoelectrico de la cadena pesada del anticuerpo (región Fc en general) y, en algunos casos, la cadena ligera.

Ejemplo 3. Variantes de la región constante de la cadena ligera isotópica

La homología entre CK y Cλ no es tan alta como entre las subclases de IgG, sin embargo, la homología de secuencia y estructural que todavía existe se utilizó para guiar las sustituciones para crear una región constante de cadena ligera isotópica de bajo pl. En la Figura 56, las posiciones con residuos que contribuyen a un pl más alto (K, R y H) o a un pl más bajo (D y E) se resaltan en negrita. El color gris indica lisina, argininas e histidinas que pueden ser sustituidas, preferiblemente por ácidos aspártico o glutámico, para disminuir el punto isoelectrico. Estas

variantes, solas o combinadas de cualquier manera, se pueden combinar de forma independiente y opcional con todas las demás variantes de cadena pesada en armazones que tienen al menos una cadena ligera.

Ejemplo 4. Mezclas purificadoras de variantes de anticuerpos con puntos isoeléctricos modificados.

Las sustituciones que modifican el punto isoeléctrico del anticuerpo se pueden introducir en una o más cadenas de una variante de anticuerpo para facilitar el análisis y la purificación. Por ejemplo, los anticuerpos heterodiméricos tales como los descritos en el documento US2011/0054151A1 se pueden purificar modificando el punto isoeléctrico de una cadena, de modo que las múltiples especies presentes después de la expresión y la purificación con Proteína A se puedan purificar mediante métodos que separen las proteínas en función de las diferencias de carga, tales como la cromatografía de intercambio iónico.

Como ejemplo, la cadena pesada de bevacizumab se modificó mediante la introducción de sustituciones para reducir su punto isoeléctrico de modo que la diferencia en las cargas entre las tres especies producidas cuando WT-IgG1-HC, HC de bajo pI y WT-LC se transfectan en células 293E es lo suficientemente grande como para facilitar la purificación por cromatografía de intercambio aniónico. Los clones se crearon como se describió anteriormente, y la transfección y purificación inicial por cromatografía con Proteína A también es como se describió anteriormente. Las secuencias de las tres cadenas "Cadena pesada 1 de XENP10653", "Cadena pesada 2 de XENP10653" y "Cadena ligera de XENP10653" se muestran en las figuras. Después de la purificación con Proteína A, se obtienen tres especies con pesos moleculares casi idénticos, pero con cargas diferentes. Estos son el homodímero WT-IgG1-HC/WT-IgG1-HC (pI = 8,12), el heterodímero WT-IgG1-HC/HC de bajo pI (pI = 6,89) y el homodímero HC de bajo pI/HC de bajo pI (pI = 6,20). La mezcla se cargó sobre una columna GE HiTrap Q HP en Tris 20 mM, pH 7,6 y se hizo eluir con un gradiente por etapas de NaCl que consiste en NaCl 50 mM, 100 mM y finalmente 200 mM en el mismo tampón Tris. La elución se controló mediante A280, y cada fracción se analizó en geles Invitrogen pH 3-10 IEF con tampón de migración Novex y estos resultados se muestran en la Figura 40. El homodímero WT-IgG1-HC/WT-IgG1-HC no se une a la columna de intercambio aniónico a pH 7,6 y, por lo tanto, está presente en el flujo continuo y el lavado (calles 1-2). El heterodímero deseado eluye con NaCl 50 mM (calle 3), mientras que el homodímero HC de bajo pI/HC de bajo pI se une más firmemente a la columna y eluye con NaCl 100 (calle 4) y 200 mM (calle 5). Por lo tanto, la variante del heterodímero deseada, que es difícil de purificar por otros medios debido a su peso molecular similar al de las otras dos especies, se purifica fácilmente mediante la introducción de sustituciones de bajo pI en una cadena. Este método de purificación de anticuerpos mediante modificación por ingeniería genética del punto isoeléctrico de cada cadena se puede aplicar a los métodos de purificación de diversas construcciones de anticuerpos biespecíficos. El método es particularmente útil cuando la especie deseada en la mezcla tiene un peso molecular similar y otras propiedades tales que las técnicas de purificación normales no son capaces de separar la especie deseada con un alto rendimiento.

Ejemplo 5. Diseño de sustituciones de carga no nativas para alterar el pI

El pI de las cadenas constantes de los anticuerpos se alteró mediante sustituciones por medio de ingeniería genética en los dominios constantes. El pI reducido se puede modificar por ingeniería genética realizando sustituciones de aminoácidos básicos (K o R) a aminoácidos ácidos (D o E), lo que da como resultado una mayor disminución del pI. Las mutaciones de aminoácidos básicos a aminoácidos neutros y de aminoácidos neutros a aminoácidos ácidos también darán lugar a una disminución del pI. Por el contrario, el aumento de pI se puede modificar realizando sustituciones de aminoácidos ácidos (D o E) a aminoácidos básicos (K o R), lo que da como resultado el mayor aumento de pI. Las mutaciones de aminoácidos ácidos a aminoácidos neutros y de aminoácidos neutros a aminoácidos básicos también darán lugar a un aumento del pI. Se puede encontrar una lista de valores de pK de aminoácidos en la Tabla 1 de Bjellqvist et al., 1994, Electrophoresis 15:529-539.

Al decidir qué posiciones mutar, se tuvo en cuenta el entorno circundante y el número de contactos que el aminoácido WT establece con sus vecinos para minimizar el impacto de una sustitución o conjunto de sustituciones sobre la estructura y/o función. La accesibilidad al solvente o fracción expuesta de cada posición de región constante se calculó utilizando estructuras cristalinas relevantes. Basándose en este análisis, se identificaron varias sustituciones que reducían o aumentaban el pI, pero se pronostica que tendrán un impacto mínimo sobre las propiedades biofísicas de los dominios.

El cálculo del pI de la proteína se realizó de la siguiente manera. Primero, se realizó un recuento del número de aminoácidos D, E, C, H, K, R e Y, así como el número de extremos N y C terminales presentes en la proteína. A continuación, se calculó el pI identificando el pH para el cual la proteína tenía una carga global de cero. Esto se realizó calculando la carga neta de la proteína a varios valores de pH de prueba. Los valores de pH de prueba se establecieron de manera iterativa, pasando de un pH bajo de 0 a un pH alto de 14 en incrementos de 0,001 hasta que la carga de la proteína alcanzó o superó cero. La carga neta de una proteína a un pH dado se calculó mediante la siguiente fórmula:

$$q_{\text{protein}}(\text{pH}) = \sum_{i \in \text{D,E,C,H,K,R,Y}} \frac{N_i}{1 + 10^{\text{pH} - \text{pK}_i}} - \sum_{i \in \text{D,E,C,H,K,R,Y}} \frac{N_i}{1 + 10^{\text{pK}_i - \text{pH}}}$$

dónde



es la carga neta en la proteína al pH dado, es el número de aminoácidos i (o extremos N- o C-terminales) presente en la proteína, y es el pK del aminoácido i (o extremos N- o C-terminales).

5 Ejemplo 6. Mezclas purificadoras de variantes de anticuerpos con puntos isoeléctricos modificados

Las variantes se purificaron primero por medio de Proteína A, y a continuación se cargaron en una columna de intercambio catiónico GE Healthcare HiTrap SP HP en MES 50 mM (pH 6,0) y se hicieron eluir con un gradiente de NaCl. Después de la elución, las fracciones de cada pico se cargaron en una placa Lonza IsoGel IEF (intervalo de pH 7-11) para su análisis. La separación del heterodímero de pl medio se logra en cada caso, mejorando la separación cuando el heterodímero tiene una diferencia mayor en el pl de los homodímeros.

Ejemplo 7. Estabilidad de las variantes isostéricas de pl

Se utilizó la fluorimetría de barrido diferencial (DSF) para evaluar la estabilidad de los anticuerpos que contenían sustituciones de pl isostéricas. Los experimentos de DSF se realizaron utilizando un Sistema de Detección por PCR en Tiempo Real Bio-Rad CFX Connect. Las proteínas se mezclaron con colorante fluorescente SYPRO Orange y se diluyeron a 0,25 o 0,50 mg/mL en PBS. La concentración final de SYPRO Orange fue 10X. Después de un período de incubación inicial de 10 minutos a 25°C, las proteínas se calentaron de 25 a 95°C utilizando una velocidad de calentamiento de 1°C/min. Se realizó una medición de fluorescencia cada 30 segundos. Las temperaturas de fusión se calcularon utilizando el soporte lógico del instrumento. Los resultados se muestran en la Figura 110. Los resultados indicaron que las variantes de pl isostéricas (+) tenían menor estabilidad. Por lo tanto, los autores de la presente invención realizaron más variantes para reducir el número de sustituciones en el lado de pl aumentado, pero los resultados mostraron que solo E269Q tenía un pequeño efecto sobre la estabilidad, mientras que E272Q y E283Q tuvieron grandes impactos negativos sobre la estabilidad.

Ejemplo 8. Diseño de conectores de scFv cargados para permitir la purificación IEX de scFv que contiene anticuerpos biespecíficos heterodiméricos

Los autores de la presente invención han diseñado previamente las regiones constantes de anticuerpo de los anticuerpos heterodiméricos para que tengan un pl más alto o más bajo utilizando sustituciones tanto isotópicas como de carga isostérica. Estos métodos permiten la purificación eficiente IEX de especies heterodiméricas, pero pueden afectar a la estabilidad o la inmunogenicidad de los anticuerpos debido a las sustituciones no naturales introducidas. Para un scFv que contiene anticuerpos biespecíficos heterodiméricos (se muestran ejemplos en la Figura 84), otra región para introducir sustituciones cargadas es el conector scFv que conecta VH y VL de las construcciones de scFv. El conector más común utilizado es (GGGGS)₃ o (GGGGS)₄, que se ha demostrado que es lo suficientemente flexible como para permitir la formación estable de scFv sin formación de dímeros. Estas secuencias ya no son naturales y contienen poca especificidad de secuencia para probables epítopos inmunogénicos. Por lo tanto, los autores de la presente invención pensaron que la introducción de sustituciones cargadas en los conectores de scFv podía ser una buena estrategia para permitir la purificación IEX de especies biespecíficas heterodiméricas que contienen scFv. Se diseñaron varios conectores de scFv cargados positiva y negativamente y se muestran en la Figura 85. Todos los conectores son construcciones novedosas excepto el conector "Whitlow" que fue referido por Whitlow et al., (Whitlow M, Protein Eng. 1993 (8), 989-995). Los conectores designados como 6paxA_1 (+A) y 3hsc_2 (-A) se tomaron de una base de datos de regiones no estructuradas en proteínas humanas obtenidas de archivos PDB y estos conectores tienen aproximadamente la misma longitud que (GGGGS)₃ y contienen cargas positivas o negativas. Otros conectores se basan en la introducción de residuos repetitivos de Lys o Glu, así como en motivos Lys-Pro diseñados para reducir la posibilidad de degradación proteolítica en los conectores cargados positivamente.

Los conectores cargados se evaluaron primero para determinar el comportamiento biofísico en el formato scFv-His y a continuación se construyeron en formato biespecífico Fab-scFv-Fc anti-CD 19xCD3. Los genes que codificaban el scFv de formas modificadas por ingeniería genética del anticuerpo anti-CD3 SP34 o el anticuerpo anti-CD19 4G7 se construyeron en el vector de expresión de mamífero pTT5. Para construcciones completas, el gen de la cadena constante de la IgG1 humana se obtuvo de clones de IMAGEN y se subclonó en el vector pTT5. Los genes de scFv se sintetizaron comercialmente (Blue Heron Biotechnologies, Bothell WA). Las modificaciones de aminoácidos se construyeron utilizando mutagénesis dirigida al sitio utilizando los métodos de mutagénesis dirigida al sitio QuikChange® (Stratagene, La Jolla CA). Todo el ADN fue secuenciado para confirmar la fidelidad de las secuencias.

Los plásmidos que contenían scFv o genes de cadena pesada y cadena ligera se transfectaron (o cotransfectaron para formatos completos) en células 293E utilizando lipofectamina (Invitrogen, Carlsbad CA) y se cultivaron en medio FreeStyle 293 (Invitrogen, Carlsbad CA). Después de 5 días de crecimiento, los anticuerpos se purificaron del sobrenadante de cultivo mediante Proteína A (completo) utilizando la resina MabSelect (GE Healthcare) o utilizando la resina Ni-NTA para scFv etiquetados con His. Los heterodímeros se purificaron adicionalmente mediante cromatografía de intercambio iónico (IEX) para evaluar la capacidad de las cadenas pesadas de pl alterado para

permitir una purificación eficaz. En la Figura 90 se muestran ejemplos de purificaciones IEX para un anti-CD 19xCD3 biespecífico que contiene un conector cargado positivamente en el scFv de CD3. Las concentraciones de anticuerpos se determinaron mediante ensayo de ácido bicinconínico (BCA) (Pierce).

Los scFv o anticuerpos con modificación genética del pl se caracterizaron por SDS-PAGE, cromatografía de exclusión por tamaño (SEC), electroforesis en gel con enfoque isoeléctrico (IEF) y/o fluorimetría de barrido diferencial (DSF).

Ejemplo 9. Estabilidad y comportamiento de scFv que contienen conectores cargados

Los scFv anti-CD3 y los scFv anti-CD19 que contenían conectores cargados positiva o negativamente, respectivamente, se evaluaron para determinar el comportamiento en SEC así como para la determinar la estabilidad utilizando DSF. Se utilizó fluorimetría de barrido diferencial (DSF) para evaluar la estabilidad de los scFv que contenían conectores cargados. Los experimentos de DSF se realizaron utilizando un Sistema de Detección por PCR en tiempo real Bio-Rad CFX Connect. Las proteínas se mezclaron con colorante fluorescente SYPRO Orange y se diluyeron a 0,25 o 0,50 mg/mL en PBS. La concentración final de SYPRO Orange fue 10X. Después de un período de incubación inicial de 10 minutos a 25°C, las proteínas se calentaron de 25 a 95°C utilizando una velocidad de calentamiento de 1°C/min. Se realizó una medición de fluorescencia cada 30 segundos. Las temperaturas de fusión se calcularon utilizando el soporte lógico del instrumento. Los valores de Tf para los scFv se muestran en la Figura 86. Los conectores cargados solo tuvieron impactos marginales sobre la estabilidad general de scFv como lo indican sus valores de Tf. Los cromatogramas SEC obtenidos a partir de scFv purificados se muestran en la Figura 4. Los conectores altamente cargados tienen un tiempo de elución más largo y colas de pico notables que indican que demasiada carga hace que los scFv se adhieran a la resina SEC más de lo esperado. Los resultados de unión para los scFv anti-CD3 cargados positivamente a las células T CD4+ (Figura 88) indicaron que la unión de la mayoría de los scFv fue similar, con la excepción del scFv 4 muy cargado (GKGKS)4, que mostró una unión más débil. No se detectó unión fuera de la diana al acotar ("gating") las células CD20+ en las PBMC. Sin embargo, cuando la unión fuera de la diana se probó utilizando células SP34, se observó cierta cantidad de unión fuera de la diana con los conectores más cargados a altas concentraciones (Figura 89).

Los conectores de scFv cargados positivamente en el scFv anti-CD3 en una construcción Fab-scFv-Fc anti-CD19xCD3 tenían la propiedad inesperada de reducir la cantidad de agregación de alto peso molecular (Figura 91). Los cromatogramas SEC de dos construcciones biespecíficas (13121 - con conector convencional (GGGGS)4) y (13124 - con conector cargado (GKPGS)4) incubadas a diversas concentraciones confirmaron este fenómeno.

Se evaluó la actividad de las construcciones anti-CD19xCD3 que contenían conectores de scFv cargados en el scFv anti-CD3 utilizando un ensayo RTCC con PBMC y anticuerpos anti-CD19xCD3 biespecíficos de formato Fab-scFv-Fc que contenían diferentes conectores de scFv (Figura 92). Los conectores tenían poco impacto sobre la actividad de RTCC, excepto el conector altamente cargado (GKGKS)3 que tenía una actividad más baja.

Las secuencias para todas las construcciones se muestran en la Figura 93.

REIVINDICACIONES

1. Un anticuerpo heterodimérico que comprende:

a) un primer monómero que comprende:

- i) un primer dominio constante de cadena pesada que comprende un primer dominio Fc variante; y
- ii) un primer dominio de unión a antígeno; y

b) un segundo monómero que comprende:

- i) un segundo dominio constante de cadena pesada que comprende un segundo dominio Fc variante; y
- ii) un segundo dominio de unión a antígeno;

en donde dicho primer dominio Fc variante comprende sustituciones de aminoácidos S364K/E357Q y dicho segundo dominio Fc variante comprende sustituciones de aminoácidos L368D/K370S.

2. Un anticuerpo heterodimérico según la reivindicación 1, en donde dicha primera unión a antígeno es un scFv anclado covalentemente a dicho primer dominio constante de cadena pesada y dicho segundo dominio de unión a antígeno es un fragmento Fab que comprende un dominio variable de cadena pesada y una cadena ligera.

3. Un anticuerpo heterodimérico según la reivindicación 2, en donde scFv comprende un conector de scFv cargado.

4. Un anticuerpo heterodimérico según la reivindicación 3, en donde el conector de scFv es GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS.

5. Un anticuerpo heterodimérico según la reivindicación 1,

en donde dicha primera unión a antígeno es un scFv de unión a CD3;
en donde dicho segundo dominio de unión a antígeno es un fragmento Fab que comprende un dominio variable de cadena pesada y una cadena ligera en donde dicho segundo dominio Fc variante comprende adicionalmente sustituciones de aminoácidos N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D, y
en donde dichos primer y segundo dominios Fc variantes comprenden cada uno adicionalmente sustituciones de aminoácidos E233P/L234V/L235A/G236del/S267K.

6. Una composición de ácido nucleico que comprende:

- a) un primer ácido nucleico que codifica dicho primer monómero según la reivindicación 1; y
- b) un segundo ácido nucleico que codifica dicho segundo monómero según la reivindicación 1.

7. Una composición de ácido nucleico que comprende:

- a) un primer ácido nucleico que codifica dicho primer monómero según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5;
- b) un segundo ácido nucleico que codifica dicho segundo monómero según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5; y
- c) un ácido nucleico que codifica una cadena ligera según una cualquiera de las reivindicaciones 2 a 5.

8. Una composición de ácido nucleico según la reivindicación 6 que comprende:

- a) un primer vector de expresión que comprende dicho primer ácido nucleico; y
- b) un segundo vector de expresión que comprende dicho segundo ácido nucleico.

9. Una composición de ácido nucleico según la reivindicación 7 que comprende:

- a) un primer vector de expresión que comprende dicho primer ácido nucleico;
- b) un segundo vector de expresión que comprende dicho segundo ácido nucleico; y
- c) un tercer vector de expresión que comprende dicha cadena ligera.

10. Una célula anfitriona que comprende una composición de ácido nucleico según una cualquiera de las reivindicaciones 7 a 9.

11. Un método para preparar una composición que comprende cultivar la célula anfitriona de la reivindicación 10 en condiciones en las que dichos ácidos nucleicos se expresan y recuperar dicha composición.

12. Anticuerpo heterodimérico según cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5 para uso en terapia.

Figura 1A-1G

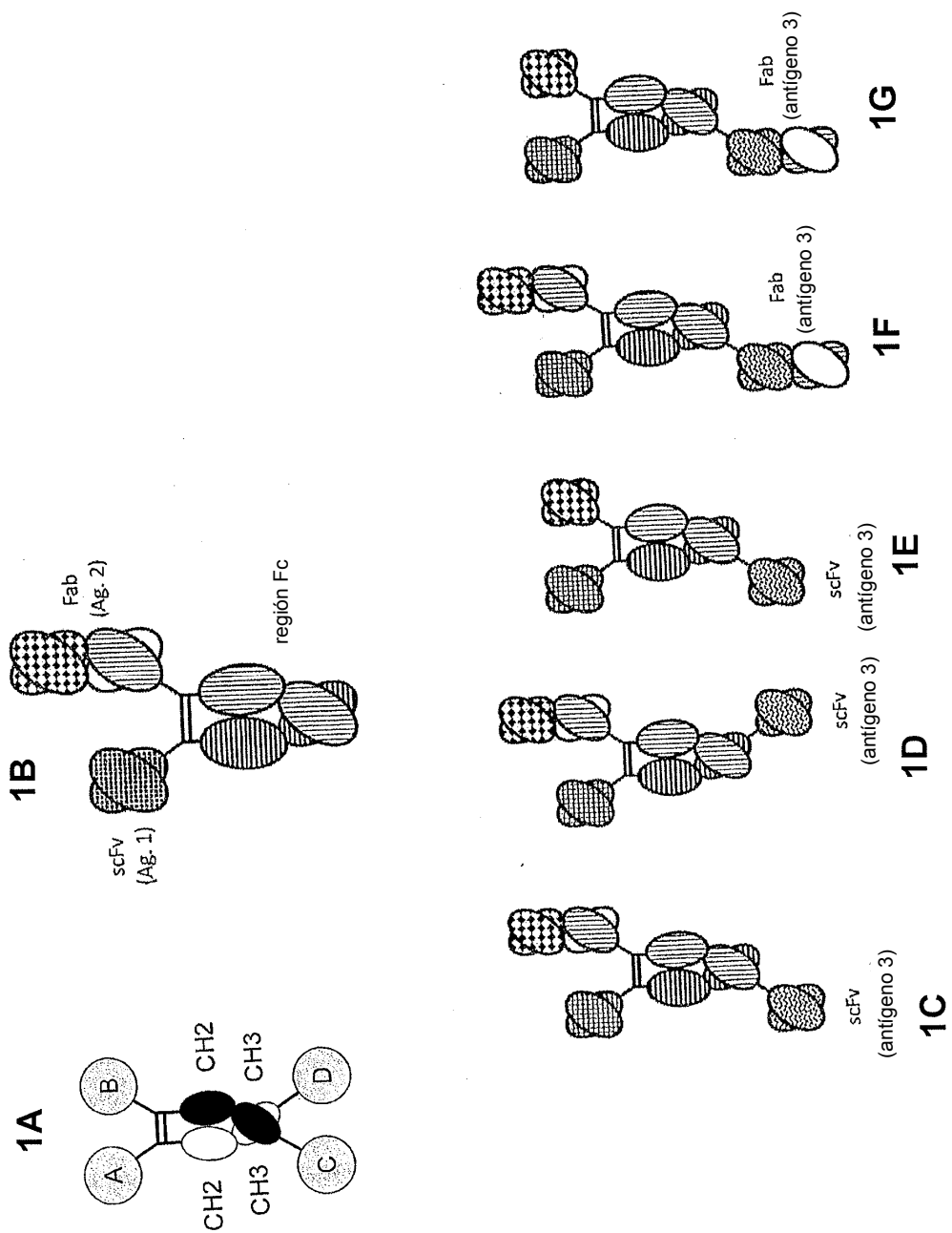


Figura 1H-1M

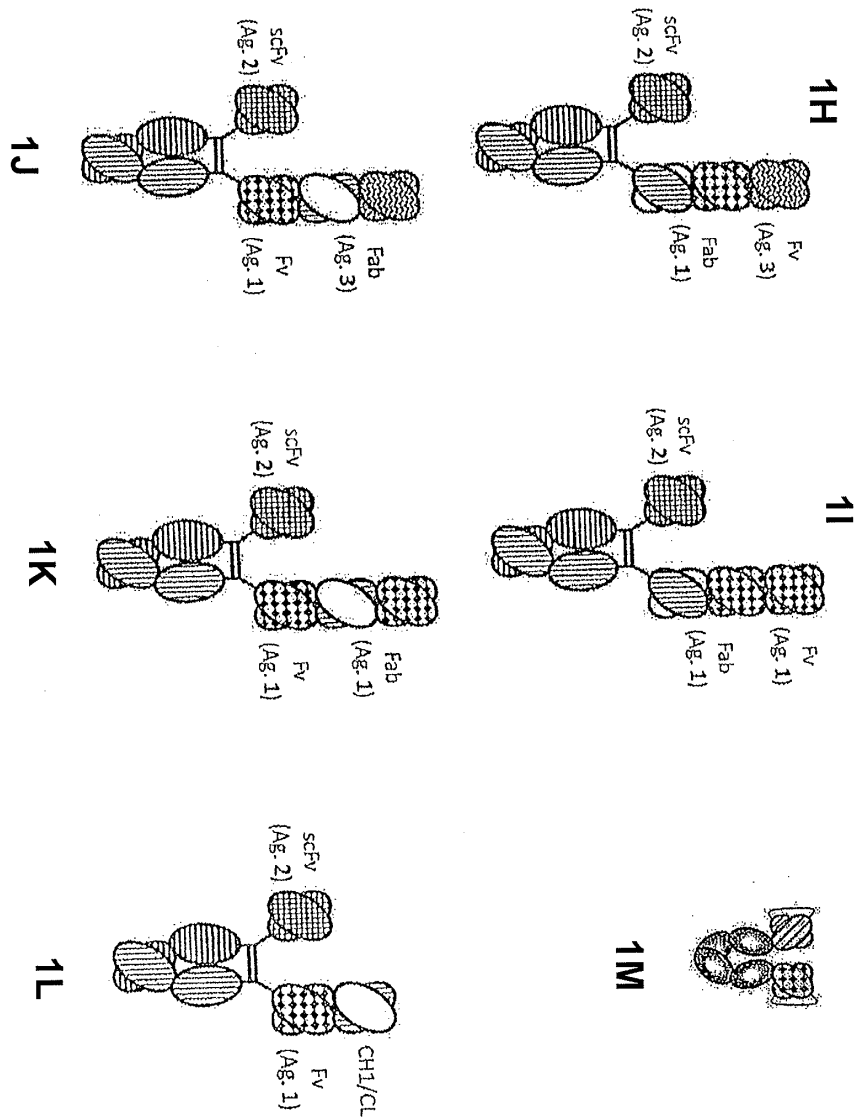
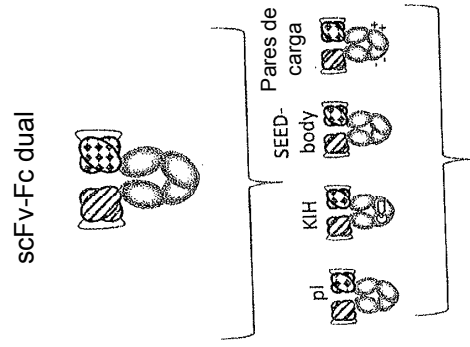
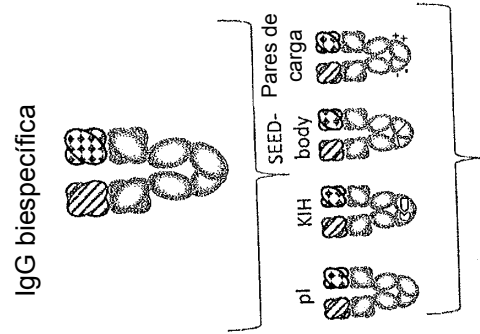


Figura 2A



Combinaciones: pl + KIH; pl + Pares de carga; KIH + Pares de carga; pl + KIH + Pares de carga, etc.

Figura 2B



Combinaciones: pl + KIH; pl + Pares de carga; KIH + Pares de carga; pl + KIH + Pares de carga, etc.

Figura 2C-2F

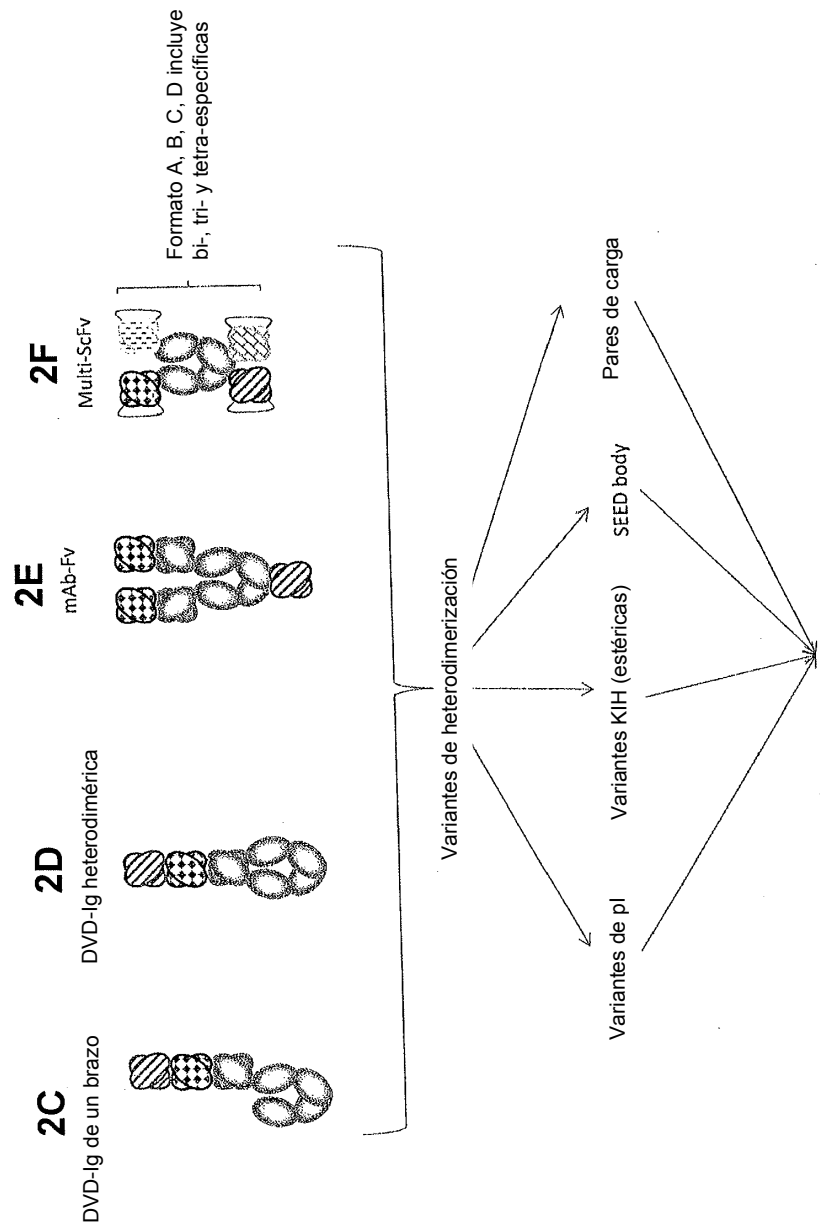


Figura 2G-2J

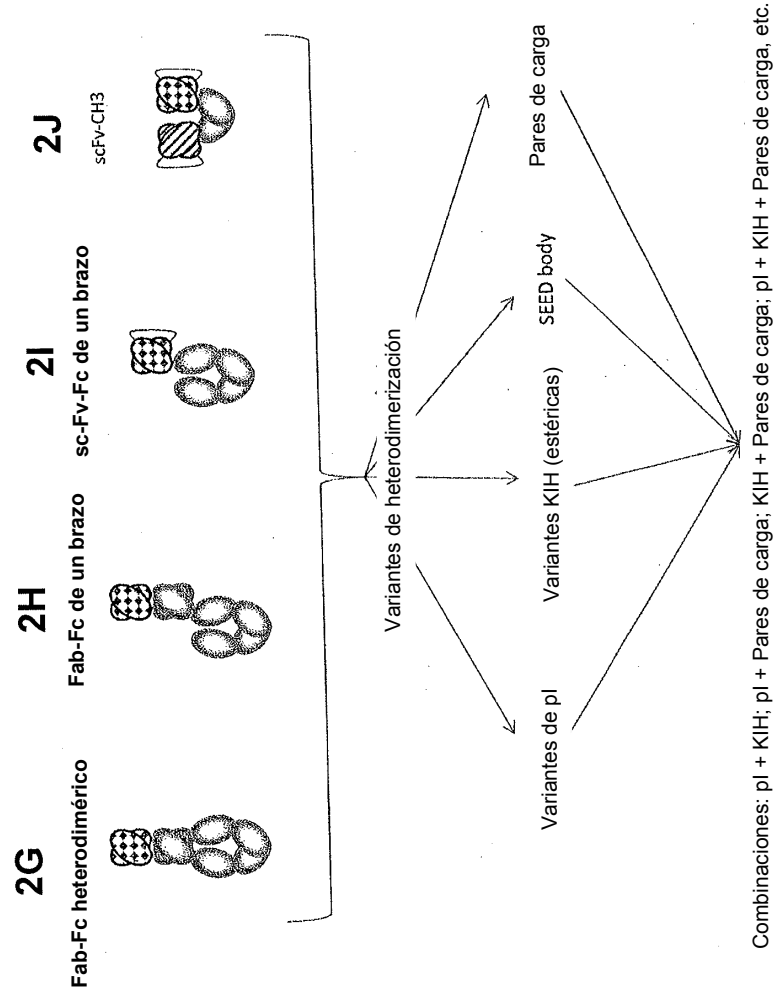


Figura 2K-2L

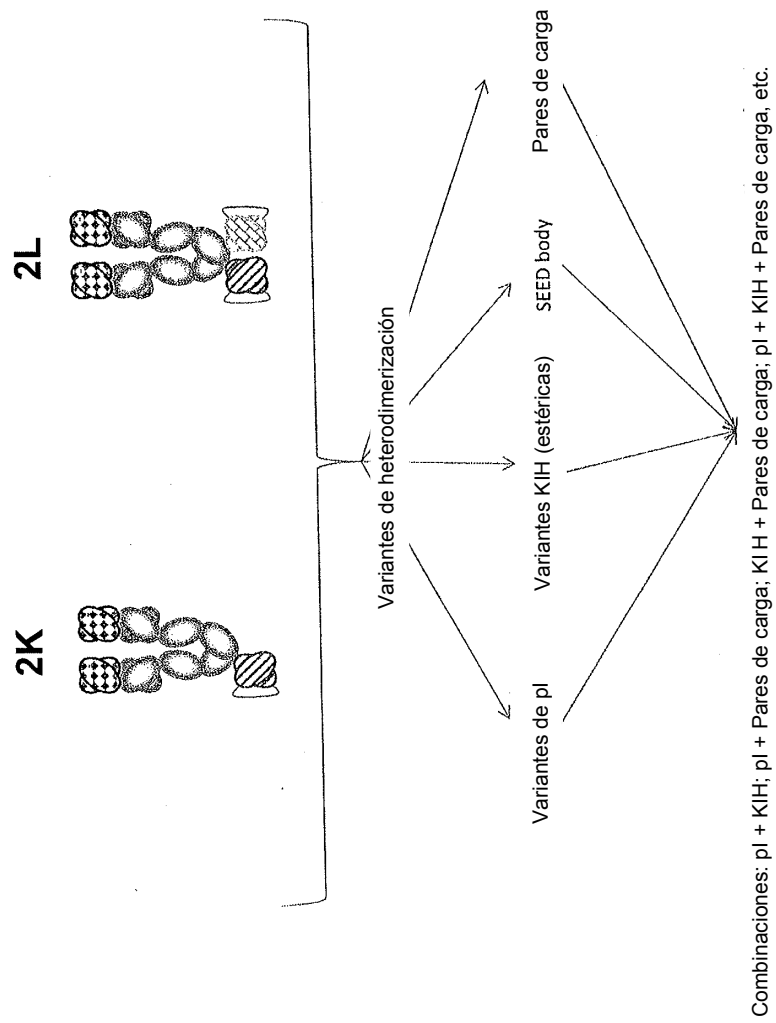


Figura 2M

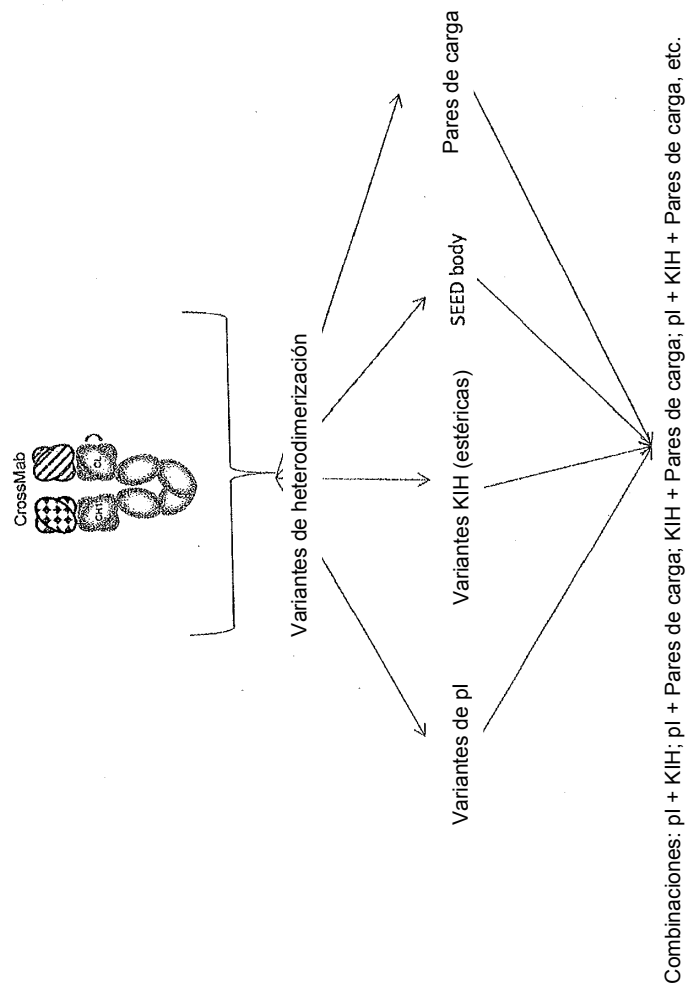


Figura 2N-2R

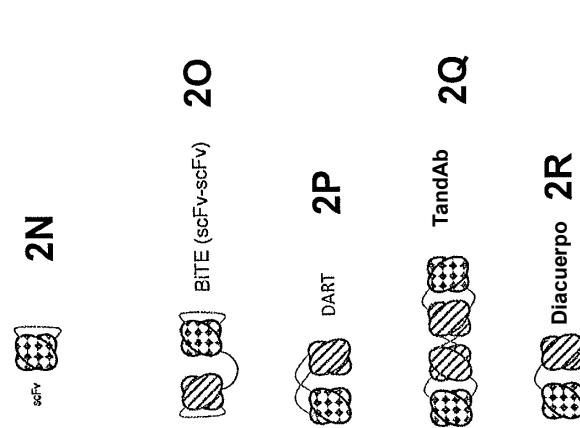


Figura 2S-2U

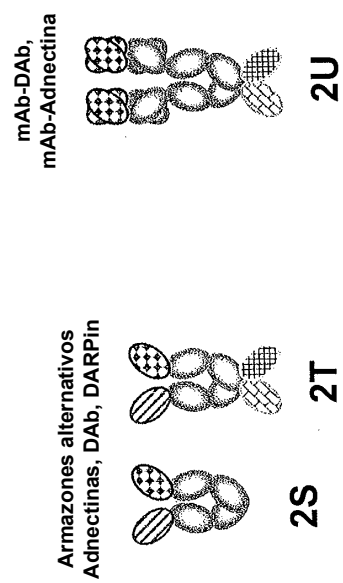


Figura 3A

Monómero 1	Monómero 2
F405A	T394F
S364D	Y349K
S364E	L368K
S364E	Y349K
S364F	K370G
S364H	Y349K
S364Y	Y349T
T411K	K370G
V397S/F405A	K370E
K370R/T411K	T394F
L351E/S364D	K370E/T411E
L351E/S364E	Y349K/L351K
L351E/T366D	Y349K/L351K
P395T/V397S/F405A	L351K/T366K
S364D/K370G	T394F
S364D/T394F	S364Y/K370R
S364E/F405A	Y349K/F405A
S364E/F405S	Y349K/T394F
S364E/T411E	Y349K/T394Y
S364H/D401K	Y349K/D401K
S364H/F405A	Y349T/T411E
S364H/T394F	Y349T/T394F
Y349C/S364E	Y349T/F405A
L351E/S364D/F405A	Y349K/S354C
L351K/S364H/D401K	Y349K/L351K/T394F
S364E/T411E/F405A	Y349T/L351E/T411E
S364H/D401K/F405A	Y349K/T394F/D401K
S364H/F405A/T411E	Y349T/T394F/T411E
K370E/T411D	Y349T/T394F/D401K
L368E/K409E	T411K
Y349T/T394F/S354C	L368K
T411E	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
Q347E/K360E	D401R/T411R
L368E	Q347R
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/K409V
L368D	S364K
L368D/K370S	S364K
L368D/K370S	S364K/E357L
L368D/K370S	S364K/E357Q
T411E/K360E/Q362E	D401K
K370S	S364K
L368E/K370S	S364K/E357Q

Figura 3B

Monómero 1	Monómero 2
K370S	S364K/E357Q
T411E/K360D	D401K
T411E/K360E	D401K
T411E/Q362E	D401K
T411E/N390D	D401K
T411E	D401K/Q347K
T411E	D401K/Q347R
T411E/K360D/Q362E	D401K
T411E/K360E/N390D	D401K
T411E/Q362E/N390D	D401K
T411E/Q347R	D401K/K360D
T411E/Q347R	D401K/K360E
T411E/K360	D401K/Q347K
T411E/K360D	D401K/Q347R
T411E/K360E	D401K/Q347K
T411E/K360E	D401K/Q347R
T411E/S364K	D401K/K370S
T411E/K370S	D401K/S364K
Q347E	E357Q
Q347E	E357Q/Q362K
K360D/Q362E	Q347R
K360D/Q362E	D401K
K360D/Q362E	Q347R/D401K
K360E/Q362E	Q347R
K360E/Q362E	D401K
K360E/Q362E	Q347R/D401K
Q362E/N390D	D401K
Q347E/K360D	D401N
K360D	Q347R/N390K
K360D	N390K/D401N
K360E	Y349H
K370S/Q347E	S364K
K370S/E357L	S364K
K370S/E357Q	S364K
K370S/Q347E/E357L	S364K
K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368D/K370S/Q347E	S364K
L368D/K370S/E357L	S364K
L368D/K370S/E357Q	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E	S364K
L368E/K370S/E357L	S364K
L368E/K370S/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E	S364K
L368D/K370T/E357L	S364K
L368D/K370T/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E	S364K
L368E/K370T/E357L	S364K
L368E/K370T/E357Q	S364K

Figura 3C

Monómero 1	Monómero 2
L368E/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357Q	S364K
T411E/Q362E	D401K/T411K
T411E/N390D	D401K/T411K
T411E/Q362E	D401R/T411R
T411E/N390D	D401R/T411R
Y407T	T366Y
F405A	T394W
T366Y/F405A	T394W/Y407T
Y407A	T366W
T366S/L368A/Y407V	T366W
T366S/L368A/Y407V/Y349C	T366W/S354C
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447	Q196K/I199T/N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447	Q196K/I199T/N276K
I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447	
N208D Q295E N384D Q418E N421D	
N208D Q295E Q418E N421D	
Q196K I199T P217R P228R N276K	
Q196K I199T N276K	
E269Q E272Q E283Q E357Q	
E269Q E272Q E283Q	
E269Q E272Q	
E269Q E283Q	
E272Q E283Q	
E269Q	

Figura 4A

Monómero 1	Monómero 2
F405A	T394F
S364D	Y349K
S364E	L368K
S364E	Y349K
S364F	K370G
S364H	Y349K
S364H	Y349T
S364Y	K370G
T411K	K370E
V397S/F405A	T394F
K370R/T411K	K370E/T411E
L351E/S364D	Y349K/L351K
L351E/S364E	Y349K/L351K
L351E/T366D	L351K/T366K
P395T/V397S/F405A	T394F
S364D/K370G	S364Y/K370R
S364D/T394F	Y349K/F405A
S364E/F405A	Y349K/T394F
S364E/F405S	Y349K/T394Y
S364E/T411E	Y349K/D401K
S364H/D401K	Y349T/T411E
S364H/F405A	Y349T/T394F
S364H/T394F	Y349T/F405A
Y349C/S364E	Y349K/S354C
L351E/S364D/F405A	Y349K/L351K/T394F
L351K/S364H/D401K	Y349T/L351E/T411E
S364E/T411E/F405A	Y349K/T394F/D401K
S364H/D401K/F405A	Y349T/T394F/T411E
S364H/F405A/T411E	Y349T/T394F/D401K
K370E/T411D	T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/K409V
L368D	S364K
L368D/K370S	S364K
L368D/K370S	S364K/E357L
L368D/K370S	S364K/E357Q
T411E/K360E/Q362E	D401K
K370S	S364K
L368E/K370S	S364K/E357Q
K370S	S364K/E357Q

Figura 4B

Monómero 1	Monómero 2
T411E/K360D	D401K
T411E/K360E	D401K
T411E/Q362E	D401K
T411E/N390D	D401K
T411E	D401K/Q347K
T411E	D401K/Q347R
T411E/K360D/Q362E	D401K
T411E/K360E/N390D	D401K
T411E/Q362E/N390D	D401K
T411E/Q347R	D401K/K360D
T411E/Q347R	D401K/K360E
T411E/K360	D401K/Q347K
T411E/K360D	D401K/Q347R
T411E/K360E	D401K/Q347K
T411E/K360E	D401K/Q347R
T411E/S364K	D401K/K370S
T411E/K370S	D401K/S364K
Q347E	E357Q
Q347E	E357Q/Q362K
K360D/Q362E	Q347R
K360D/Q362E	D401K
K360D/Q362E	Q347R/D401K
K360E/Q362E	Q347R
K360E/Q362E	D401K
K360E/Q362E	Q347R/D401K
Q362E/N390D	D401K
Q347E/K360D	D401N
K360D	Q347R/N390K
K360D	N390K/D401N
K360E	Y349H
K370S/Q347E	S364K
K370S/E357L	S364K
K370S/E357Q	S364K
K370S/Q347E/E357L	S364K
K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368D/K370S/Q347E	S364K
L368D/K370S/E357L	S364K
L368D/K370S/E357Q	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E	S364K
L368E/K370S/E357L	S364K
L368E/K370S/E357Q	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357L	S364K
L368E/K370S/Q347E/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E	S364K
L368D/K370T/E357L	S364K
L368D/K370T/E357Q	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357L	S364K
L368D/K370T/Q347E/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E	S364K
L368E/K370T/E357L	S364K
L368E/K370T/E357Q	S364K
L368E/K370T/Q347E/E357L	S364K

Figura 4C

Monómero 1	Monómero 2
L368E/K370T/Q347E/E357Q	S364K
T411E/Q362E	D401K/T411K
T411E/N390D	D401K/T411K
T411E/Q362E	D401R/T411R
T411E/N390D	D401R/T411R
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/V397M/Q419E/K447	Q196K/I199T/N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/Q419E/K447	Q196K/I199T/N276K

Figura 5

Monómero 1	Monómero 2
Y407T	T366Y
F405A	T394W
T366Y/F405A	T394W/Y407T
Y407A	T366W
T366S/L368A/Y407V	T366W
T366S/L368A/Y407V/Y349C	T366W/S354C
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
L351K	L351E

Figura 6

<u>Región constante variante</u>	<u>Sustituciones</u>
pl_ISO(-)	I199T N203D K274Q R355Q N384S K392N V397M Q419E DEL447
pl_(-)_isostérica_A	N208D Q295E N384D Q418E N421D
pl_(-)_isostérica_B	N208D Q295E Q418E N421D
pl_ISO(+RR)	Q196K I199T P217R P228R N276K
pl_ISO(+)	Q196K I199T N276K
pl_(+)_isostérica_A	E269Q E272Q E283Q E357Q
pl_(+)_isostérica_B	E269Q E272Q E283Q
pl_(+)_isostérica_E269Q/E272Q	E269Q E272Q
pl_(+)_isostérica_E269Q/E283Q	E269Q E283Q
pl_(+)_isostérica_E272Q/E283Q	E272Q E283Q
pl_(+)_isostérica_E269Q	E269Q

Figura 7

Variante	Variantes, cont.
G236R	P329K
S239G	A330L
S239K	A330S/P331S
S239Q	I332K
S239R	I332R
V266D	V266D/A327Q
S267K	V266D/P329K
S267R	S267R/A327Q
H268K	S267R/P329K
E269R	G236R/L328R
299R	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K
299K	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
K322A	E233P/L234V/L235A/G236del/S239K/A327G
A327G	E233P/L234V/L235A/G236del/S267K/A327G
A327L	E233P/L234V/L235A/G236del
A327N	
A327Q	
L328E	
L328R	
P329A	
P329H	

Figura 8

XENP	ID VH	ID VL	Sustituciones VH	Sustituciones VL
12912	H1.79	L1.48	G44C	G100C
13701	H1.80	L1.49	Q105C	S43C
13702	H1.81	L1.50	Y100BC	G49C
13703	H1.81	L1.51	Y100BC	G50C
13704	H1.82	L1.51	D100C	G50C
13705	H1.83	L1.52	A101C	G46C
13706	H1.84	L1.53	Q39C	Q38C
13707	H1.85	L1.54	V89C	K42C
13708	H1.86	L1.55	V100CC	K53C
13709	H1.83	L1.56	A101C	A55C

Figura 9**Conectores de scFv cargados positivos**

Nombre	Secuencia	Longitud	Carga	SEQ ID NO:
Gly-Ser 15	GGGGS GGGGS GGGGS	15	0	
Conector Whitlow	GSTSGSGKPGSGEGSTKG	18	+1	
6paxA_1 (+A)	IRPRAIGGSKPRVA	14	+4	
+B	GKGGS GKGGS GKGGS	15	+3	
+C	GKGGS GKGGS GKGGS	15	+3	
+D	GGGKS GGGKS GGGKS	15	+3	
+E	GKGKS GKGKS GKGKS	15	+6	
+F	GGGKS GKGGS GKGGS	15	+3	
+G	GKPGSGKPGSGKPGS	15	+3	
+H	GKPGSGKPGSGKPGSGKPGS	20	+4	
+I	GKGKS GKGKS GKGKS GKGKS	20	+8	

Conectores de scFv cargados negativos

Nombre	Secuencia	Longitud	Carga
Gly-Ser 15	GGGGS GGGGS GGGGS GGGGS	20	0
3hsc_2 (-A)	STAGDTHLGGEDFD	14	-4
-B	GEGGS GEGGS GEGGS	15	-3
-C	GEGGS GEGGS GEGGS	15	-3
-D	GGGES GGGES GGGES	15	-3
-E	GEGES GEGES GEGES	15	-6
-F	GGGES GEGGS GEGGS	15	-3
-G	GEGES GEGES GEGES GEGES	20	-8

Figura 10A**VARIANTES DE HETERODIMERIZACIÓN**

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	Variantes
196	Q	Q	Q	K	K
199	I	T	T	T	T
203	N	D	N	D	D
217	P	R	L	S	R
220	C	C	P	G	E,R (IgG2)
221	D	—	LGD	—	E,R (IgG1)
222	K	V	T	—	E,R (IgG2)
223	T	—	T	—	D,E,R,K
225	T	—	T	P	D,E,R,K
228	P	P	RCPEPK SCDTPP PCPRCP EPKSCD TPPPCP RCPEPK SCDTPP PCPR	S	D,E,R,K
247	P	P	P	P	Q
276	N	N	K	N	K
340	K	K	K	K	E,Q
345	E	E	E	E	K
	Q	Q	Q	Q	E,K,R
349	Y	Y	Y	Y	A,C,D,E,I,K,S,T,W
350	T	T	T	T	I
351	L	L	L	L	E,K,V,Y
354	S	S	S	S	C
355	R	R	R	Q	E,Q
356	D	E	E	E	K, L, R
357	E	E	E	E	K,R,Q,T
	K	K	K	K	D,E
362	Q	Q	Q	Q	E,K
	S	S	S	S	C,D,E,F,G,H,K,R,T,Y
366	T	T	T	T	A,D,I,K,L,M,S,V,W,Y
	L	L	L	L	A,D,E,K,S todos excepto C, P
370	K	K	K	K	C,D,E,G,R,S,T,V todos excepto C, P
371	G	G	G	G	D
384	N	N	S	N	S
390	N	N	N	N	D,E,K,R
392	K	K	N	K	C,D,E,F,L,M,N
394	T	T	T	T	F,S,V,W,Y

Figura 10B

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	Variantes
395	P	P	P	P	T,V
396	P	P	P	P	T,V
397	V	M	M	V	M,S,T
399	D	D	D	D	todos excepto C, P C,K,R
400	S	S	S	S	A,D,E,K,R
401	D	D	D	D	K,N,R
405	F	F	F	F	L, todos excepto C, P A,F,L,M,S,T,V
407	Y	Y	Y	Y	T,V todos excepto C, P A,L,M,V
409	K	K	K	R	R todos excepto C, P D,E,F,K,L,M,V,W
	T	T	T	T	D,E,K,L,N,R,S
419	Q	Q	Q	E	E
439	K	K	K	K	D,E

Figura 11**COMBINACIONES DE VARIANTES EN FORMATOS DE HETERODIMERIZACIÓN**

Formato de heterodimerización	Variantes FcRn Monómero 1 y/o Monómero 2	Variantes Fc Monómero 1 y/o Monómero 2	Variantes pl	Variantes estéricas (incluyendo pares de carga)	Combinaciones (véase Leyenda E)
scFv-Fab-Fc "abridor de botella" (Figura 11B)	Véase Leyenda A	Véase Leyenda B	Véase Leyenda C	Véase Leyenda D	1), 2), 3), 4), 5), 6), 7), 8), 9) y 10)
Abridor de botella trimérico (Figura 12A, 12B y 12D)	Véase Leyenda A	Véase Leyenda B	Véase Leyenda C	Véase Leyenda D	1), 2), 3), 4), 5), 6), 7), 8), 9) y 10)
Abridor de botella trimérico (scFv-Fab-Fv-scFv; Figura 13A)	Véase Leyenda A	Véase Leyenda B	Véase Leyenda C	Véase Leyenda D	1), 2), 3), 4), 5), 6), 7), 8), 9) y 10)
Abridor de botella trimérico (scFv-Fab-Fv-scFv; Figura 14B)	Véase Leyenda A	Véase Leyenda B	Véase Leyenda C	Véase Leyenda D	1), 2), 3), 4), 5), 6), 7), 8), 9) y 10)
Abridor de botella trimérico (scFv-Fab-Fb-scFv; Figura 15C)	Véase Leyenda A	Véase Leyenda B	Véase Leyenda C	Véase Leyenda D	1), 2), 3), 4), 5), 6), 7), 8), 9) y 10)
Abridor de botella trimérico (scFv-Fab-Fv-Fab; Figura 16D)	Véase Leyenda A	Véase Leyenda B	Véase Leyenda C	Véase Leyenda D	1), 2), 3), 4), 5), 6), 7), 8), 9) y 10)
Abridor de botella trimérico (scFv-Fab-Fv-Fab; Figura 17E)	Véase Leyenda A	Véase Leyenda B	Véase Leyenda C	Véase Leyenda D	1), 2), 3), 4), 5), 6), 7), 8), 9) y 10)

Figura 12A

Variantes estéricas preferidas que favorecen la heterodimerización de Fc

Monómero 1	Monómero 2
F405A	T394F
S364D	Y349K
S364E	L368K
S364E	Y349K
S364F	K370G
S364H	Y349K
S364H	Y349T
S364Y	K370G
T411K	K370E
V397S/F405A	T394F
K370R/T411K	K370E/T411E
L351E/S364D	Y349K/L351K
L351E/S364E	Y349K/L351K
L351E/T366D	L351K/T366K
P395T/V397S/F405A	T394F
S364D/K370G	S364Y/K370R
S364D/T394F	Y349K/F405A
S364E/F405A	Y349K/T394F
S364E/F405S	Y349K/T394Y
S364E/T411E	Y349K/D401K
S364H/D401K	Y349T/T411E
S364H/F405A	Y349T/T394F
S364H/T394F	Y349T/F405A
Y349C/S364E	Y349K/S354C
L351E/S364D/F405A	Y349K/L351K/T394F
L351K/S364H/D401K	Y349T/L351E/T411E
S364E/T411E/F405A	Y349K/T394F/D401K
S364H/D401K/F405A	Y349T/T394F/T411E
S364H/F405A/T411E	Y349T/T394F/D401K
Y349T	S364H
T394F	F405A
Y349T/T394F	S364H/F405A
K370E	T411K
K370E/T411D	T411K
K370E/T411E	K370R/T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T411E	S364H/D401K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/K409V
L368D	S364K

Figura 12B

Variantes estéricas específicamente preferidas que favorecen la heterodimerización de Fc

Variante 1	Variante 2
F405A	T394F
S364D	Y349K
S364E	Y349K
S364H	Y349T
L351K	L351E
D401K	T411E
S364D/T394F	Y349K/F405A
S364E/F405A	Y349K/T394F
S364H/D401K	Y349T/T411E
S364H/F405A	Y349T/T394F
S364H/T394F	Y349T/F405A
L351K/S364H/D401K	Y349T/L351E/T411E
S364H/D401K/F405A	Y349T/T394F/T411E
S364H/F405A/T411E	Y349T/T394F/D401K
Y349T	S364H
T394F	F405A
Y349T/T394F	S364H/F405A
K370E	T411K
K370E/T411D	T411K
K370E/T411E	K370R/T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T411E	S364H/D401K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/K409V
L368D	S364K

Figura 12C

Variantes estéricas preferidas que favorecen la heterodimerización de Fc

Monómero 1	Monómero 2
F405A	T394F
S364D	Y349K
S364E	L368K
S364E	Y349K
S364F	K370G
S364H	Y349K
S364H	Y349T
S364Y	K370G
T411K	K370E
V397S/F405A	T394F
K370R/T411K	K370E/T411E
L351E/S364D	Y349K/L351K
L351E/S364E	Y349K/L351K
L351E/T366D	L351K/T366K
P395T/V397S/F405A	T394F
S364D/K370G	S364Y/K370R
S364D/T394F	Y349K/F405A
S364E/F405A	Y349K/T394F
S364E/F405S	Y349K/T394Y
S364E/T411E	Y349K/D401K
S364H/D401K	Y349T/T411E
S364H/F405A	Y349T/T394F
S364H/T394F	Y349T/F405A
Y349C/S364E	Y349K/S354C
L351E/S364D/F405A	Y349K/L351K/T394F
L351K/S364H/D401K	Y349T/L351E/T411E
S364E/T411E/F405A	Y349K/T394F/D401K
S364H/D401K/F405A	Y349T/T394F/T411E
S364H/F405A/T411E	Y349T/T394F/D401K
Y349T	S364H
T394F	F405A
Y349T/T394F	S364H/F405A
K370E	T411K
K370E/T411D	T411K
K370E/T411E	K370R/T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T411E	S364H/D401K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/K409V
L368D	S364K

Figura 12D

Monómero 1	Monómero 2
L368D/K370S	S364K
L368D/K370S	S364K/E357L
L368D/K370S	S364K/E357Q
T411E/K360E/Q362E	D401K
L368E/K370S	S364K
K370S	S364K
L368E/K370S	S364K/E357Q
K370S	S364K/E357Q
L368E/K370S	S364K
K370S	S364K
L368E/K370S	S364K/E357Q
K370S	S364K/E357Q

Figura 12E

Monómero 1	Monómero 2
lado ISO(-)	lado ISO(+) o ISO(++RR))
T411E	D401K
T411E K360D	D401K
T411E K360E	D401K
T411E Q362E	D401K
T411E N390D	D401K
T411E	D401K Q347K
T411E	D401K Q347R
T411E K360D Q362E	D401K
T411E K360E Q362E	D401K
T411E K360E N390D	D401K
T411E Q362E N390D	D401K
T411E Q347R	D401K K360D
T411E Q347R	D401K K360E
T411E K360	D401K Q347K
T411E K360D	D401K Q347R
T411E K360E	D401K Q347K
T411E K360E	D401K Q347R
T411E S364K	D401K K370S
T411E K370S	D401K S364K
Q347E	E357Q
Q347E	E357Q Q362K
K360D Q362E	Q347R
K360D Q362E	D401K
K360D Q362E	Q347R D401K
K360E Q362E	Q347R
K360E Q362E	D401K
K360E Q362E	Q347R D401K
Q362E N390D	D401K
Q347E K360D	D401N
K360D	Q347R N390K
K360D	N390KD401N
K360E	Y349H
K370S Q347E	S364K
K370S E357L	S364K
K370S E357Q	S364K
K370S Q347E E357L	S364K
K370S Q347E E357Q	S364K
L368D K370S Q347E	S364K
L368D K370S E357L	S364K
L368D K370S E357Q	S364K
L368D K370S Q347E E357L	S364K
L368D K370S Q347E E357Q	S364K
L368E K370S Q347E	S364K
L368E K370S E357L	S364K
L368E K370S E357Q	S364K
L368E K370S Q347E E357L	S364K
L368E K370S Q347E E357Q	S364K
L368D K370T Q347E	S364K
L368D K370T E357L	S364K
L368D K370T E357Q	S364K

Figura 12F

Monómero 1	Monómero 2
L368D K370T Q347E E357L	S364K
L368D K370T Q347E E357Q	S364K
L368E K370T Q347E	S364K
L368E K370T E357L	S364K
L368E K370T E357Q	S364K
L368E K370T Q347E E357L	S364K
L368E K370T Q347E E357Q	S364K
T411E Q362E	D401K T411K
T411E N390D	D401K T411K
T411E Q362E	D401R T411R
T411E N390D	D401R T411R

Figura 12G

XENP	Heterodímero sesgado	Heterodímero sesgado	Heterodímero	
	Variante, Cadena 1	Variante, Cadena 2	Rendimiento (%)	CH3 Tf (°C)
12757	ninguna	ninguna	52.7	83.1
12758	L368D/K370S	S364K	94.4	76.6
12759	L368D/K370S	S364K/E357L	90.2	77.2
12760	L368D/K370S	S364K/E357Q	95.2	77.5
12761	T411E/K360E/Q362E	D401K	85.6	80.6
12496	L368E/K370S	S364K	91.5	n.d.
12511	K370S	S364K	59.9	n.d.
12840	L368E/K370S	S364K/E357Q	59.5	n.d.
12841	K370S	S364K/E357Q	90.4	n.d.
12894	L368E/K370S	S364K	41.0	n.d.
12895	K370S	S364K	49.3	n.d.
12896	L368E/K370S	S364K/E357Q	73.9	n.d.
12901	K370S	S364K/E357Q	87.9	n.d.

Figura 12H

VARIANTES DE HETERODIMERIZACIÓN PREFERIDAS

Sustituciones monómero 1 de Fc	Sustituciones monómero 2 de Fc
Y407T	T366Y
F405A	T394W
T366Y/F405A	T394W/Y407T
Y407A	T366W
T366S/L368A/Y407V	T366W
T366S/L368A/Y407V/Y349C	T366W/S354C
K392D/K409D	E356K/D399K
K370D/K392D/K409D	E356K/E357K/D399K
Y349T	S364H
T394F	F405A
Y349T/T394F	S364H/F405A
K370E	T411K
K370E/T411D	T411K
K370E/T411E	K370R/T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T411E	S364H/D401K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R
Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/ K392N/V397M/Q419E/K447_ (deleción de K447)	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/ K392N/V397M/Q419E/K447	Q196K/I199T/N276K
N384S/K392N/V397M/Q419E	N276K
D221E/P228E/L368E	D221R/P228R/K409R
C220E/P228E/L368E	C220R/E224R/P228R/K409R
F405L	K409R
T366I/K392M/T394W	F405A/Y407V
T366V/K409F	L351Y/Y407A
T366A/K392E/K409F/T411E	D399R/S400R/Y407A
Y349T	S364H
T394F	F405A
Y349T/T394F	S364H/F405A
K370E	T411K
K370E/T411D	T411K
K370E/T411E	K370R/T411K
L368E/K409E	L368K
Y349T/T411E	S364H/D401K
Y349T/T394F/S354C	S364H/F405A/Y349C
T411E	D401K
T411E	D401R/T411R

Figura 12I

Q347E/K360E	Q347R
L368E	S364K
L368E/K370S	S364K
L368E/K370T	S364K
L368E/D401R	S364K
L368E/D401N	S364K
L368E	E357S/S364K
L368E	S364K/K409E
L368E	S364K/K409V
L368D	S364K

Figura 12J

Sustituciones de monómero 1 de Fc	Sustituciones de monómero 2 de Fc
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392NNV/397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/P217R/P228R/N276K
I199T/N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392NNV/397M/Q419E/K447_	Q196K/I199T/N276K
N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392NNV/397M/Q419E/K447_	Q196K/P217R/P228R/N276K
N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392NNV/397M/Q419E/K447_	Q196K/N276K
N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/Q419E/K447_	Q196K/P217R/P228R/N276K
N203D/K247Q/R355Q/N384S/K392N/Q419E/K447_	Q196K/N276K

Figura 13

Cadena ligera constante kappa (CK) (SEQ ID NO: 1)

RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQ
DSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Cadena pesada constante IgG1 (CH1-bisagra-CH2-CH3) (SEQ ID NO: 2)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTFSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCTPPCPAPPELLG
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
YNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada constante IgG2 (CH1-bisagra-CH2-CH3) (SEQ ID NO: 3)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTFSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSNFGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKTKVERKCCVECPPCPAPPVAGPS
VFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNS
TFRVVSFLTVDVHNDWLNGLKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSR
RWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada constante IgG3 (CH1-bisagra-CH2-CH3) (SEQ ID NO: 4)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTFSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVELKTPLGDTTHTCPRCPEPK
SCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPEPKSCDTPPPCPRCPAPPELLGGPSVFLFPPKPK
KDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFKNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTFRVVSFL
TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNIFSCSV
MHEALHNRYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada constante IgG4 (CH1-bisagra-CH2-CH3) (SEQ ID NO: 5)

ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTFSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVNHNKPSNTKVDKRVESKYGPPCPSCPAPEFLGGP
SVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFN
STYRVVSFLTVDVHNDWLNGLKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQE
EMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSR
RWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada constante IgG1/2 (CH1-bisagra-CH2-CH3) (SEQ ID NO: 6)

ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTFSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHNKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCTPPCPAPPVA
GPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQ
FNSTFRVVSFLTVDVHNDWLNGLKEYKCKVSNKGLPAPIEKTISKTKGQPREPQVYTLPPSR
EEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPMLDSDGSFFLYSKLTVDK
SRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Figura 14A

Región variable de cadena pesada anti-CD3 humanizada

SEQ ID NO. 1.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

Región variable de cadena ligera anti-CD3 humanizada

SEQ ID NO. 2.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11502 H1_L1.4

SEQ ID NO. 3.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 4.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 5.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 6.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11794 H1.3_L1.4

SEQ ID NO. 7.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 8.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14B

SEQ ID NO. 9.

EVQLVESGGGDVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 10.

QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11795 H1.4_L1.4

SEQ ID NO. 11.

EVQLVESGGGKVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 12.

EVQLVESGGGKVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 13.

EVQLVESGGGKVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 14.

QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11796 H1.5_L1.4

SEQ ID NO. 15.

EVQLVESGGGNVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

XENP11796 H1.5_L1.4, cont.

SEQ ID NO. 16.

EVQLVESGGGNVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 17.

EVQLVESGGGNVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

Figura 14C

SEQ ID NO. 18.

QAVVTQEPSTLVSPGGT~~VTTL~~TCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAP~~GV~~PARF~~SGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11801 H1.6_L1.4

SEQ ID NO. 19.

EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS~~KN~~TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGT~~VTTL~~TCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAP~~GV~~PARF~~SGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 20.

EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS~~KN~~TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGT~~VTTL~~TCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAP~~GV~~PARF~~SGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 21.

EVQLVESGGGSVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS~~KN~~TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 22.

QAVVTQEPSTLVSPGGT~~VTTL~~TCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAP~~GV~~PARF~~SGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11802 H1.7_L1.4

SEQ ID NO. 23.

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS~~KN~~TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGT~~VTTL~~TCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAP~~GV~~PARF~~SGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 24.

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS~~KN~~TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGT~~VTTL~~TCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAP~~GV~~PARF~~SGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 25.

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS~~KN~~TLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 26.

QAVVTQEPSTLVSPGGT~~VTTL~~TCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAP~~GV~~PARF~~SGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14D

XENP11803 H1.8_L1.4

SEQ ID NO. 27.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 28.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 29.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 30.

QAVVTQEPSTLVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11804 H1.9_L1.4

SEQ ID NO. 31.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMHWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 32.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMHWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 33.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMHWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLVTVSS

SEQ ID NO. 34.

QAVVTQEPSTLVSPGGTTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14E

XENP11805 H1.10_L1.4

SEQ ID NO. 35.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 36.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 37.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 38.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVL

XENP11806 H1.11_L1.4

SEQ ID NO. 39.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 40.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 41.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQASGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 42.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVL

Figura 14F

XENP11807 H1.12_L1.4

SEQ ID NO. 43.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 44.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 45.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVTVSS

SEQ ID NO. 46.

QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11808 H1.13_L1.4

SEQ ID NO. 47.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANSYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 48.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANSYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 49.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANSYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVTVSS

SEQ ID NO. 50.

QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14G

XENP11809 H1.14_L1.4

SEQ ID NO. 51.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATAYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 52.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATAYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 53.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATAYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 54.

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11810 H1.15_L1.4

SEQ ID NO. 55.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYAASVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 56.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYAASVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 57.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYAASVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 58.

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14H

XENP11811 H1.16_L1.4

SEQ ID NO. 59.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 60.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 61.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSS

SEQ ID NO. 62.

QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11812 H1.17_L1.4

SEQ ID NO. 63.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDT SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 64.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDT SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 65.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDT SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTV

SEQ ID NO. 66.

QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14I

XENP11813 H1.18_L1.4

SEQ ID NO. 67.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 68.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 69.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 70.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11814 H1.19_L1.4

SEQ ID NO. 71.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 72.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 73.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRDEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 74.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14J

XENP11815 H1.20_L1.4

SEQ ID NO. 75.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRKEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 76.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRKEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 77.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRKEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 78.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11816 H1.21_L1.4

SEQ ID NO. 79.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRSEDYAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 80.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRSEDYAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 81.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRSEDYAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 82.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14K

XENP11817 H1.22_L1.4

SEQ ID NO. 83.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 84.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 85.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVTVSS

SEQ ID NO. 86.

QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11818 H1.23_L1.4

SEQ ID NO. 87.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTR HGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 88.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTR HGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 89.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTR HGNFGNSYVSWFAYWGQGT LTVTVSS

SEQ ID NO. 90.

QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14L

XENP11819 H1.24_L1.4

SEQ ID NO. 91.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 92.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 93.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGT LVT VSS

SEQ ID NO. 94.

QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11820 H1.25_L1.4

SEQ ID NO. 95.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 96.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 97.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGQSYVSWFAYWGQGT LVT VSS

SEQ ID NO. 98.

QAVVTQEP SLTVSPGGTVTLT CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14M

XENP11821 H1.26_L1.4

SEQ ID NO. 99.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNTYVSWFAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 100.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNTYVSWFAYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 101.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNTYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 102.

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11822 H1.27_L1.4

SEQ ID NO. 103.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 104.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFDYWGQGLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 105.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFDYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 106.

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14N

XENP11823 H1.28_L1.4

SEQ ID NO. 107.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~TVTVSSGGGGSGGGSGGGGS~~
QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG~~
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 108.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~TVTVSSGGGGSGGGSGGGGS~~
QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG~~
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 109.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~TVTVSS~~

SEQ ID NO. 110.

QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG~~
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11824 H1.29_L1.30

SEQ ID NO. 111.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKSLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGSGGGGS~~
QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG~~
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 112.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKSLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGSGGGGS~~
QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG~~
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 113.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKSLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSS~~

SEQ ID NO. 114.

QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG~~
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 140

XENP11825 H1_L1.10

SEQ ID NO. 115.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQPPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 116.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQPPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 117.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LVT VSS

SEQ ID NO. 118.

QAVVTQPPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11826 H1_L1.11

SEQ ID NO. 119.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLSVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 120.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LVT VSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLSVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 121.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT LVT VSS

SEQ ID NO. 122.

QAVVTQEPSLSVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGV PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14P

XENP11827 H1_L1.12

SEQ ID NO. 123.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGATVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 124.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGATVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 125.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 126.

QAVVTQEPSTLVSPGATVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11828 H1_L1.13

SEQ ID NO. 127.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGQTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 128.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGQTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 129.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 130.

QAVVTQEPSTLVSPGQTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14Q

XENP11829 H1_L1.14

SEQ ID NO. 131.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 132.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 133.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 134.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11830 H1_L1.15

SEQ ID NO. 135.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGHYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 136.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGHYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 137.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 138.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTSGHYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14R

XENP11831 H1_L1.16

SEQ ID NO. 139.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGSGGGGS
 QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIYDTNKRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 140.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGSGGGGS
 QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIYDTNKRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 141.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSS

SEQ ID NO. 142.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIYDTNKRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11832 H1_L1.17

SEQ ID NO. 143.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGSGGGGS
 QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 144.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGSGGGSGGGGS
 QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 145.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSS

SEQ ID NO. 146.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNNRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14S

XENP11833 H1_L1.18

SEQ ID NO. 147.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRASGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 148.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRASGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 149.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 150.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRASGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11834 H1_L1.19

SEQ ID NO. 151.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTSNKHSWTPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 152.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTSNKHSWTPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 153.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDS KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 154.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTSNKHSWTPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14T

XENP11835 H1_L1.20

SEQ ID NO. 155.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPDRFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 156.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPDRFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 157.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 158.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPDRFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11836 H1_L1.21

SEQ ID NO. 159.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSKSG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 160.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSKSG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 161.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 162.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSKSG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14U

XENP11837 H1_L1.22

SEQ ID NO. 163.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSSSG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 164.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSSSG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 165.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 166.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSSSG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11838 H1_L1.23

SEQ ID NO. 167.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 168.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 169.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 170.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14V

XENP11839 H1_L1.24

SEQ ID NO. 171.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQAEDAEEYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 172.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQAEDAEEYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 173.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVTVSS

SEQ ID NO. 174.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQAEDAEEYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11840 H1_L1.25

SEQ ID NO. 175.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQSEDEAEYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 176.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQSEDEAEYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 177.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVTVSS

SEQ ID NO. 178.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQSEDEAEYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14W

XENP11841 H1_L1.26

SEQ ID NO. 179.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGSGGGGS~~
QAVVTQEPSTLVSPGGT~~VTTLT~~CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEADYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 180.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGSGGGGS~~
QAVVTQEPSTLVSPGGT~~VTTLT~~CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEADYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 181.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSS~~

SEQ ID NO. 182.

QAVVTQEPSTLVSPGGT~~VTTLT~~CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEADYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP11842 H1_L1.27

SEQ ID NO. 183.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGSGGGGS~~
QAVVTQEPSTLVSPGGT~~VTTLT~~CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCLWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 184.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGSGGGGS~~
QAVVTQEPSTLVSPGGT~~VTTLT~~CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCLWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 185.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSS~~

SEQ ID NO. 186.

QAVVTQEPSTLVSPGGT~~VTTLT~~CGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCLWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14X

XENP11843 H1_L1.28

SEQ ID NO. 187.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 188.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 189.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 190.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

XENP11844 H1_L1.29

SEQ ID NO. 191.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLEIKGSHHHHHH

SEQ ID NO. 192.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLEIKGS

SEQ ID NO. 193.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFNGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 194.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLEIKGS

Figura 14Y

XENP11920 H1_L3.1

SEQ ID NO. 195.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGSGGGGS~~
EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSGS
GTDFTLTISLQPEDFAVYYCALWYSNLWVFGGGTKVEIKGSHHHHHH

SEQ ID NO. 196.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGSGGGGS~~
EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSGS
GTDFTLTISLQPEDFAVYYCALWYSNLWVFGGGTKVEIKGS

SEQ ID NO. 197.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSS~~

SEQ ID NO. 198.

EIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSGS
GTDFTLTISLQPEDFAVYYCALWYSNLWVFGGGTKVEIKGS

XENP11921 H1_L5.1

SEQ ID NO. 199.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGSGGGGS~~
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQPPKGLIGGTNKRAPGV~~PDRFSGSGS~~
GTDFTLTISLQAEDVAVYYCALWYSNLWVFGGGTKVEIKGSHHHHHH

SEQ ID NO. 200.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGSGGGGS~~
DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQPPKGLIGGTNKRAPGV~~PDRFSGSGS~~
GTDFTLTISLQAEDVAVYYCALWYSNLWVFGGGTKVEIKGS

SEQ ID NO. 201.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSS~~

SEQ ID NO. 202.

DIVMTQSPDSLAVSLGERATINCKSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQPPKGLIGGTNKRAPGV~~PDRFSGSGS~~
GTDFTLTISLQAEDVAVYYCALWYSNLWVFGGGTKVEIKGS

Figura 14Z

XENP11922 H1_L1.31

SEQ ID NO. 203.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTDGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 204.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTDGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 205.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSS

SEQ ID NO. 206.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTDGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

XENP11923 H1_L1.32

SEQ ID NO. 207.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGKTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 208.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGKTKLTVL

SEQ ID NO. 209.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSS

SEQ ID NO. 210.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGKTKLTVL

Figura 14AA

XENP12107 H1.38_L1.4

SEQ ID NO. 211.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGCTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 212.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGCTKLTVL

SEQ ID NO. 213.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTATYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 214.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGCTKLTVL

XENP12108 H1_L1.33

SEQ ID NO. 215.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGCTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 216.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGCTKLTVL

SEQ ID NO. 217.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 218.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGCTKLT

Figura 14BB

XENP12109 H1_L1.34

SEQ ID NO. 219.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGTAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 220.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGTAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 221.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 222.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGTAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP12110 H1_L1.35

SEQ ID NO. 223.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 224.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 225.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 226.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14CC

XENP12111 H1_L1.36

SEQ ID NO. 227.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTlVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQPPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 228.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTlVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQPPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 229.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTlVTVSS

SEQ ID NO. 230.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQPPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP12112 H1_L1.37

SEQ ID NO. 231.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTlVTVSSGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQPPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 232.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTlVTVSSGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQPPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 233.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTlVTVSS

SEQ ID NO. 234.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQPPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14DD

XENP12113 H1_L1.38

SEQ ID NO. 235.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 236.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 237.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 238.

QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP12114 H1_L1.39

SEQ ID NO. 239.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQDPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 240.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSSGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQDPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 241.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 242.

QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQDPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14EE

XENP12131 H1.30_L1.4

SEQ ID NO. 243.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 244.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 245.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 246.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP12132 H1.31_L1.4

SEQ ID NO. 247.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 248.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 249.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 250.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14FF

XENP12133 H1.32_L1.4

SEQ ID NO. 251.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAATLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 252.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAATLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 253.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 254.

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAATLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP12134 H1.33_L1.4

SEQ ID NO. 255.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAATLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 256.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAATLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 257.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 258.

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAATLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14GG

XENP12135 H1.34_L1.4

SEQ ID NO. 259.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQCTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 260.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQCTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 261.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMSWVRQAPGKGLEWVGRIRSKANNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFDYWGQCTLVTVSS

SEQ ID NO. 262.

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP12136 H1.35_L1.4

SEQ ID NO. 263.

EVQLVESGGEVKKPGESLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQCTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 264.

EVQLVESGGEVKKPGESLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQCTLVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 265.

EVQLVESGGEVKKPGESLRLSCAASGFTFNTYAMNWRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQCTLVTVSS

SEQ ID NO. 266.

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

Figura 14HH

XENP12137 H1.36_L1.4

SEQ ID NO. 267.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSNNGGSTYYADSVKGRFTI
SRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQA
VVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGK
AALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVLCSHHHHHH

SEQ ID NO. 268.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSNNGGSTYYADSVKGRFTI
SRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQA
VVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGK
AALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 269.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSNNGGSTYYADSVKGRFTI
SRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 270.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVL

XENP12138 H1.37_L1.4

SEQ ID NO. 271.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 272.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 273.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 274.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSLWVFGGGTKLTVL

Figura 14II

XENP12139 H1.37_L1.32

SEQ ID NO. 275.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 276.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 277.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO. 278.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQEKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTLSGAQPEDEAEYYCALWYSNLWVFGGGTKLTVL

XENP12149 H1_L1.40

SEQ ID NO. 279.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 280.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 281.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO. 282.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVFGGGTKLTVL

Figura 14JJ

XENP12213 H1.30_L1.40

SEQ ID NO. 283.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 284.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 285.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 286.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

XENP12214 H1.8_L1.40

SEQ ID NO. 287.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 288.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 289.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 290.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

Figura 14KK

XENP12215 H1.39_L1.40

SEQ ID NO. 291.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 292.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 293.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 294.

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

XENP12216 H1.40_L1.40

SEQ ID NO. 295.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 296.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 297.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 298.

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

Figura 14LL

XENP12217 H1.30_L1.41

SEQ ID NO. 299.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 300.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 301.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 302.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

XENP12218 H1.8_L1.41

SEQ ID NO. 303.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 304.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 305.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 306.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Figura 14MM

XENP12219 H1.39_L1.41

SEQ ID NO. 307.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 308.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 309.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO. 310.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

XENP12220 H1.40_L1.41

SEQ ID NO. 311.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 312.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 313.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO. 314.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

Figura 14NN

XENP12221 H1.30_L1.42

SEQ ID NO. 315.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 316.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 317.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 318.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

XENP12222 H1.8_L1.42

SEQ ID NO. 319.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 320.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 321.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 322.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Figura 1400

XENP12223 H1.39_L1.42

SEQ ID NO. 323.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 324.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 325.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 326.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

XENP12224 H1.40_L1.42

SEQ ID NO. 327.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 328.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 329.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 330.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Figura 14PP

XENP12225 H1.30_L1.43

SEQ ID NO. 331.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 332.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 333.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 334.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

XENP12226 H1.8_L1.43

SEQ ID NO. 335.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 336.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 337.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 338.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Figura 14QQ

XENP12227 H1.39_L1.43

SEQ ID NO. 339.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS~~
QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQSPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG~~
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 340.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS~~
QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQSPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG~~
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 341.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSS~~

SEQ ID NO. 342.

QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQSPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG~~
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

XENP12228 H1.40_L1.43

SEQ ID NO. 343.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS~~
QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQSPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG~~
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 344.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS~~
QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQSPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG~~
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 345.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGT~~LVTVSS~~

SEQ ID NO. 346.

QAVVTQEP~~SLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQSPRGLIGGT~~NKRAPGV~~PARFSGSLLG~~
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Figura 14RR

XENP12229 H1.30_L1.44

SEQ ID NO. 347.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHVWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 348.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHVWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 349.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 350.

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHVWFVGGGTKLTVL

XENP12230 H1.8_L1.44

SEQ ID NO. 351.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHVWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 352.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHVWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 353.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 354.

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHVWFVGGGTKLTVL

Figura 14SS

XENP12231 H1.39_L1.44

SEQ ID NO. 355.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 356.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 357.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVVSS

SEQ ID NO. 358.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

XENP12232 H1.40_L1.44

SEQ ID NO. 359.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 360.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 361.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVVSS

SEQ ID NO. 362.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEAEYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

Figura 14TT

XENP12233 H1.30_L1.45

SEQ ID NO. 363.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 364.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 365.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVVSS

SEQ ID NO. 366.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

XENP12234 H1.8_L1.45

SEQ ID NO. 367.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 368.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 369.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSS

SEQ ID NO. 370.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Figura 14UU

XENP12235 H1.39_L1.45

SEQ ID NO. 371.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTlVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTlVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 372.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTlVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTlVL

SEQ ID NO. 373.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTlVTVSS

SEQ ID NO. 374.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTlVL

XENP12236 H1.40_L1.45

SEQ ID NO. 375.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTlVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTlVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 376.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTlVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTlVL

SEQ ID NO. 377.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTlVTVSS

SEQ ID NO. 378.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTlVL

Figura 14VV

XENP12237 H1.30_L1.46

SEQ ID NO. 379.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 380.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 381.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO. 382.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

XENP12238 H1.8_L1.46

SEQ ID NO. 383.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 384.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 385.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO. 386.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

Figura 14WW

XENP12239 H1.39_L1.46

SEQ ID NO. 387.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
 QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 388.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
 QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 389.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO. 390.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

XENP12240 H1.40_L1.46

SEQ ID NO. 391.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
 QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 392.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGGS
 QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 393.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSS

SEQ ID NO. 394.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

Figura 14XX

XENP12241 H1.30_L1.47

SEQ ID NO. 395.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 396.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 397.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 398.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

XENP12242 H1.8_L1.47

SEQ ID NO. 399.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 400.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 401.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

SEQ ID NO. 402.

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

Figura 14YY

XENP12243 H1.39_L1.47

SEQ ID NO. 403.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 404.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 405.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 406.

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

XENP12244 H1.40_L1.47

SEQ ID NO. 407.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO. 408.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

SEQ ID NO. 409.

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWRKAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVSS

SEQ ID NO. 410.

QAVVTQEPSTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

Figura 15A

Regiones variables CD3 scFv optimizadas

núm. Xen	vhCDR1	vhCDR2	vhCDR3	vICDR1	vICDR2	vICDR3
XENP11502 H1_L1.4 SEQ ID NO: 4	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKGV SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11794 H1.3_L1.4 SEQ ID NO: 8	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKGV SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11795 H1.4_L1.4 SEQ ID NO: 12	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKGV SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11796 H1.5_L1.4 SEQ ID NO: 16	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKGV SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11801 H1.6_L1.4 SEQ ID NO: 20	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKGV SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11802 H1.7_L1.4 SEQ ID NO: 24	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKGV SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11803 H1.8_L1.4 SEQ ID NO: 28	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKGV SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11804 H1.9_L1.4 SEQ ID NO: 32	TYAMH SEQ ID NO: 432	RIRSKYNNYATYYADSVKGV SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11805 H1.10_L1.4 SEQ ID NO: 36	TYAMS SEQ ID NO: 412	RIRSKYNNYATYYADSVKGV SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11806 H1.11_L1.4 SEQ ID NO: 40	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKGV SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11807 H1.12_L1.4 SEQ ID NO: 44	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKGV SEQ ID NO: 414	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430

Figura 15B

núm. Xen	vhCDR1	vhCDR2	vhCDR3	vICDR1	vICDR2	vICDR3
XENP11808 H1.13_L1.4 SEQ ID NO: 48	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKANSYATYYADSVKG SEQ ID NO: 434	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11809 H1.14_L1.4 SEQ ID NO: 52	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 478	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11810 H1.15_L1.4 SEQ ID NO: 56	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 479	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11811 H1.16_L1.4 SEQ ID NO: 60	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11812 H1.17_L1.4 SEQ ID NO: 64	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11813 H1.18_L1.4 SEQ ID NO: 68	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11814 H1.19_L1.4 SEQ ID NO: 72	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11815 H1.20_L1.4 SEQ ID NO: 76	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11816 H1.21_L1.4 SEQ ID NO: 80	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11817 H1.22_L1.4 SEQ ID NO: 84	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11818 H1.23_L1.4 SEQ ID NO: 88	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11819 H1.24_L1.4 SEQ ID NO: 92	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430

Figura 15C

núm. Xen	vhCDR1	vhCDR2	vhCDR3	vICDR1	vICDR2	vICDR3
XENP11820 H1.25_L1.4 SEQ ID NO: 96	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 418	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11821 H1.26_L1.4 SEQ ID NO: 100	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNTYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11822 H1.27_L1.4 SEQ ID NO: 104	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFEDY SEQ ID NO: 480	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11823 H1.28_L1.4 SEQ ID NO: 108	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11824 H1.29_L1.30 SEQ ID NO: 112	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11825 H1_L1.10 SEQ ID NO: 116	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11826 H1_L1.11 SEQ ID NO: 120	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11827 H1_L1.12 SEQ ID NO: 124	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11828 H1_L1.13 SEQ ID NO: 128	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11829 H1_L1.14 SEQ ID NO: 132	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 421	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11830 H1_L1.15 SEQ ID NO: 136	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTSGHYAN SEQ ID NO: 422	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11831 H1_L1.16 SEQ ID NO: 140	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	DTNKRAP SEQ ID NO: 426	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430

Figura 15D

núm. Xen	vhCDR1	vhCDR2	vhCDR3	vICDR1	vICDR2	vICDR3
XENP11832 H1 L1.17 SEQ ID NO: 144	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 427	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11833 H1 L1.18 SEQ ID NO: 148	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAS SEQ ID NO: 428	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11834 H1 L1.19 SEQ ID NO: 152	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKHHS SEQ ID NO: 482	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11835 H1 L1.20 SEQ ID NO: 156	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11836 H1 L1.21 SEQ ID NO: 160	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11837 H1 L1.22 SEQ ID NO: 164	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11838 H1 L1.23 SEQ ID NO: 168	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11839 H1 L1.24 SEQ ID NO: 172	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11840 H1 L1.25 SEQ ID NO: 176	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11841 H1 L1.26 SEQ ID NO: 180	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11842 H1 L1.27 SEQ ID NO: 184	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 417
XENP11843 H1 L1.28 SEQ ID NO: 188	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 433

Figura 15E

núm. Xen	vhCDR1	vhCDR2	vhCDR3	vICDR1	vICDR2	vICDR3
XENP11844 H1 L1.29 SEQ ID NO: 192	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11920 H1 L3.1 SEQ ID NO: 196	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	RSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 423	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11921 H1 L5.1 SEQ ID NO: 200	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	KSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 424	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11922 H1 L1.31 SEQ ID NO: 204	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP11923 H1 L1.32 SEQ ID NO: 208	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12107 H1.38 L1.4 SEQ ID NO: 212	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12108 H1 L1.33 SEQ ID NO: 216	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12109 H1 L1.34 SEQ ID NO: 220	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12110 H1 L1.35 SEQ ID NO: 224	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12111 H1 L1.36 SEQ ID NO: 228	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12112 H1 L1.37 SEQ ID NO: 232	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12113 H1 L1.38 SEQ ID NO: 236	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430

Figura 15F

núm. Xen	vhCDR1	vhCDR2	vhCDR3	vICDR1	vICDR2	vICDR3
XENP12114 H1 L1.39 SEQ ID NO: 240	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12131 H1.30 L1.4 SEQ ID NO: 244	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12132 H1.31 L1.4 SEQ ID NO: 248	TYAMS SEQ ID NO: 412	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12133 H1.32 L1.4 SEQ ID NO: 252	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 414	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12134 H1.33 L1.4 SEQ ID NO: 256	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFDY SEQ ID NO: 419	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12135 H1.34 L1.4 SEQ ID NO: 260	TYAMS SEQ ID NO: 412	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 414	HGNFGDSYVSWFDY SEQ ID NO: 419	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12136 H1.35 L1.4 SEQ ID NO: 264	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12137 H1.36 L1.4 SEQ ID NO: 268	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 415	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12138 H1.37 L1.4 SEQ ID NO: 272	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12139 H1.37 L1.32 SEQ ID NO: 276	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12149 H1 L1.40 SEQ ID NO: 280	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430
XENP12213 H1.30 L1.40 SEQ ID NO: 284	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNLWV SEQ ID NO: 430

Figura 15G

núm. Xen	vhCDR1	vhCDR2	vhCDR3	vICDR1	vICDR2	vICDR3
XENP12214 H1.8_L1.40 SEQ ID NO: 288	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYA ^{TY} YADSVKGG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12215 H1.39_L1.40 SEQ ID NO: 292	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYA ^{TY} YADSVKGG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12216 H1.40_L1.40 SEQ ID NO: 296	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYA ^{TY} YADSVKGG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12217 H1.30_L1.41 SEQ ID NO: 300	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYA ^{TY} YADSVKGG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12218 H1.8_L1.41 SEQ ID NO: 304	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYA ^{TY} YADSVKGG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12219 H1.39_L1.41 SEQ ID NO: 308	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYA ^{TY} YADSVKGG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12220 H1.40_L1.41 SEQ ID NO: 312	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYA ^{TY} YADSVKGG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12221 H1.30_L1.42 SEQ ID NO: 316	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYA ^{TY} YADSVKGG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12222 H1.8_L1.42 SEQ ID NO: 320	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYA ^{TY} YADSVKGG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12223 H1.39_L1.42 SEQ ID NO: 324	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYA ^{TY} YADSVKGG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12224 H1.40_L1.42 SEQ ID NO: 328	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYA ^{TY} YADSVKGG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12225 H1.30_L1.43 SEQ ID NO: 332	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYA ^{TY} YADSVKGG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433

Figura 15H

núm. Xen	vHCDR1	vHCDR2	vHCDR3	vICDR1	vICDR2	vICDR3
XENPI2226 H1.8_L1.43 SEQ ID NO: 336	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENPI2227 H1.39_L1.43 SEQ ID NO: 340	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENPI2228 H1.40_L1.43 SEQ ID NO: 344	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENPI2229 H1.30_L1.44 SEQ ID NO: 348	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENPI2230 H1.8_L1.44 SEQ ID NO: 352	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENPI2231 H1.39_L1.44 SEQ ID NO: 356	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENPI2232 H1.40_L1.44 SEQ ID NO: 360	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENPI2233 H1.30_L1.45 SEQ ID NO: 364	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENPI2234 H1.8_L1.45 SEQ ID NO: 368	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENPI2235 H1.39_L1.45 SEQ ID NO: 372	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENPI2236 H1.40_L1.45 SEQ ID NO: 376	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENPI2237 H1.30_L1.46 SEQ ID NO: 380	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433

Figura 151

núm. Xen	vhCDR1	vhCDR2	vhCDR3	vICDR1	vICDR2	vICDR3
XENP12238 H1.8_L1.46 SEQ ID NO: 384	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12239 H1.39_L1.46 SEQ ID NO: 388	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12240 H1.40_L1.46 SEQ ID NO: 392	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12241 H1.30_L1.47 SEQ ID NO: 396	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12242 H1.8_L1.47 SEQ ID NO: 400	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12243 H1.39_L1.47 SEQ ID NO: 404	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGNSYVSWFAY SEQ ID NO: 416	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP12244 H1.40_L1.47 SEQ ID NO: 408	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
XENP ?? SEQ ID NO: 1 and 2	TYAMN SEQ ID NO: 411	RIRSKYNNYATYYADSVKG SEQ ID NO: 413	HGNFGDSYVSWFAY SEQ ID NO: 417	GSSTGAVTTSNYAN SEQ ID NO: 420	GTNKRAP SEQ ID NO: 425	ALWYSNHWV SEQ ID NO: 433
Secuencia consenso	TYAMXaa1, en donde Xaa1 es N, S, o H (SEQ ID NO: 435)	R-I-R-S-K-Xaa1-N- Xaa2-Y-A-T-Xaa3-Y-Y- A-Xaa4-S-V-K-G, en donde Xaa1 es Y o A, Xaa2 es N o S, Xaa3 es Y o A y Xaa4 es D o A (SEQ ID NO: 436)	H-G-N-F-G- Xaa1-S-Y-V-S- W-F-Xaa2-Y, en donde Xaa1 es N, D o Q y Xaa2 es A o D (SEQ ID NO: 437)	Xaa1-S-S-T-G-A- V-T-Xaa2-Xaa3- Xaa4-Y-A-N, en donde Xaa1 es G, R o K, Xaa2 es T o S, Xaa3 es S o Y Xaa4 es N o H (SEQ ID NO: 438)	Xaa1-T-N- Xaa2-R-A- Xaa3, en donde Xaa1 es G o D, Xaa2 es k o N, y Xaa3 es P o S (SEQ ID NO: 439)	Xaa1-L-W-Y- S-N-Xaa2-W- V, en donde Xaa1 es A o L y Xaa2 es L o H (SEQ ID NO: 440)

Figura 16

>XENP13790 H1.79_L1.48_scFv(GKPGS)4_His

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKCLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVR HGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVT
QEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPE
DEADYYCALWYSNHWWFGCGTKLTVLGSHHHHHH

>XENP13790 H1.79_L1.48_scFv(GKPGS)4

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKCLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVR HGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVT
QEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPE
DEADYYCALWYSNHWWFGCGTKLTVLGS

Figura 17A

1 XENP13124 = Sin 428L/434S; XENP13681 = Con 428L/434S

monómero scFv (+)	monómero Fab (-)
Variantes pl heterodímero S364K/E357Q	Variantes pl heterodimerización L368D/K370S
conector cargado de scFv (GKPGS) ₄	Sustituciones pl isostéricas N208D/Q295E/N384D/Q418E/N421D
FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
± 428L/434S para FcRn	± 428L/434S para FcRn
ScFv CD3 es SP34 H.130_L1.47 (+conector cargado)	Secuencias Fv para antígenos diana, incluyendo CD19, por ejemplo

2.

monómero scFv	monómero Fab
Variantes pl heterodímero S364K/E357Q	Variantes pl heterodimerización L368D/K370S
conector cargado de scFv (GKPGS) ₄	Sustituciones pl I199T N203D K274Q R355Q Q419E K447del
FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K	FcKO E233P/L234V/L235A/G236del/S267K
± 428L/434S para FcRn (opcional)	± 428L/434S para FcRn (opcional)
ScFv CD3 es SP34 H.130_L1.47 (+conector cargado)	Secuencias Fv para antígenos diana, incluyendo CD19, por ejemplo

Figura 17B

XENP13124 scFv-Fc HC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYAT
YYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTL
VTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYA
NWWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYS
NHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK

XENP13124 Fab-Fc HC

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTKY
NEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
EQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Figura 17C

XENP13681 scFv-Fc HC

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYAT
 YYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGT
 LVTSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSTVSPGGTVTLTSGSSTGAVTTSNYA
 NWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYS
 NHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
 VVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
 VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWE
 SNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVLHEALHSHYTQKSLS
 LSPGK

XENP13681 Fab-Fc HC

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTTY
 NEKFGRVTISDSKSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGT
 LTVTS SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
 SGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAG
 PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYN
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
 MTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWFSFGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRW
 EQGDVFSCSVLHEALHSHYTQKSLSLSPGK

XENP13124, XENP13681 LC

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLN
 SGVPDRFSGSGSTEFTLTSSLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKRTVAAPSV
 FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYFPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSYSL
 SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Figura 18

XENP13124 Anti-CD19 x Anti-CD3 Fab-Fv-Fc [anti-CD3 HC]

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYAT
YYADSVKGRFTISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGT
LVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYA
NWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWYS
NHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCV
VVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCK
VSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWE
SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLS
LSPGK (SEQ ID NO:461)

XENP13124 Anti-CD19 x Anti-CD3 Fab-Fv-Fc [anti-CD19 HC]

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTKY
NEKFGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGT
LVTVS
SASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQS
SGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPVAG
PSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREE
MTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRW
EQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK (SEQ ID NO:462)

XENP13124 Anti-CD19 x Anti-CD3 Fab-Fv-Fc [anti-CD19 LC]

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLN
SGVPDRFSGSGSTEFTLTISSEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKRTVAAPSV
FIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSL
SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO:463)

Figura 19A

Regiones variables anti-CD19 estabilizadas

Las temperaturas de fusión (T_f) se determinaron por DSF a concentraciones de 0,2 mg/mL

Variante	Sustituciones	T_f	ΔT_f
4G7_H1.52_L1.155_scFv_6X-His	scFv convencional de control (VH-VL)	58.5	
4G7_L1.155_H1.52_scFv_6X-His	scFv orientación inversa (VL-VH)	61.5	3.0
4G7_H1.211_L1.155_scFv_6X-His	VH-Q64K	59.5	1.0
4G7_H1.212_L1.155_scFv_6X-His	VH-S71R	55.0	-3.5
4G7_H1.213_L1.155_scFv_6X-His	VH-I75K	59.0	0.5
4G7_H1.214_L1.155_scFv_6X-His	VH-I75T	58.5	0.0
4G7_H1.215_L1.155_scFv_6X-His	VH-S71R + VH-I75K	56.0	-2.5
4G7_H1.216_L1.155_scFv_6X-His	VH-E81Q	58.5	0.0
4G7_H1.217_L1.155_scFv_6X-His	VH-E81K	58.0	-0.5
4G7_H1.218_L1.155_scFv_6X-His	VH-M89V	59.0	0.5
4G7_H1.219_L1.155_scFv_6X-His	VH-D55G	57.0	-1.5
4G7_H1.221_L1.155_scFv_6X-His	VH-L82M	58.5	0.0
4G7_H1.222_L1.155_scFv_6X-His	VH-V33G	49.5	-9.0
4G7_H1.223_L1.155_scFv_6X-His	VH-K43G	59.5	1.0
4G7_H1.225_L1.197_scFv_6X-His	VH-Q105C + VL-S43C	51.5	-7.0
4G7_H1.52_L1.176_scFv_6X-His	VL-T10S	58.0	-0.5
4G7_H1.52_L1.177_scFv_6X-His	VL-L13V	58.5	0.0
4G7_H1.52_L1.178_scFv_6X-His	VL-L21I	59.5	1.0
4G7_H1.52_L1.179_scFv_6X-His	VL-K27Q	51.0	-7.5
4G7_H1.52_L1.180_scFv_6X-His	VL-Y34A	63.0	4.5
4G7_H1.52_L1.181_scFv_6X-His	VL-Y34S	63.5	5.0
4G7_H1.52_L1.182_scFv_6X-His	VL-Y34N	61.5	3.0
4G7_H1.52_L1.183_scFv_6X-His	VL-Y34D	61.0	2.5
4G7_H1.52_L1.184_scFv_6X-His	VL-F36Y	59.0	0.5
4G7_H1.52_L1.185_scFv_6X-His	VL-Q45K	60.0	1.5
4G7_H1.52_L1.186_scFv_6X-His	VL-M51A	59.5	1.0
4G7_H1.52_L1.187_scFv_6X-His	VL-N55Q	57.5	-1.0
4G7_H1.52_L1.188_scFv_6X-His	VL-N55E	58.5	0.0
4G7_H1.52_L1.190_scFv_6X-His	VL-N55D	59.0	0.5
4G7_H1.52_L1.189_scFv_6X-His	VL-N55F	58.0	-0.5
4G7_H1.52_L1.191_scFv_6X-His	VL-N55A	59.5	1.0
4G7_H1.52_L1.192_scFv_6X-His	VL-E70D	58.5	0.0
4G7_H1.52_L1.194_scFv_6X-His	VL-A100Q	59.5	1.0
4G7_H1.52_L1.195_scFv_6X-His	VL-A100G	59.5	1.0
4G7_H1.52;conector_alterno_L1.155_scFv_6X-His	VEGGSGSGSGSGSGGVD conector	59.0	0.5

Figura 19B

Regiones variables anti-CD19 estabilizadas

Las temperaturas de fusión (T_f) se determinaron por DSF a concentraciones de 0,4 mg/mL

Variante	Sustituciones	T_f	ΔT_f
4G7_H1.226_L1.198_20AA_conector_scFv_6X-His	VH-K43G/Q64K + VL-L21I/Q45K/A100G + conector 20 AA	63.5	+5.0
4G7_H1.227_L1.198_20AA_conector_scFv_6X-His	VH-K43G/Q64K/I75K/M89V + VL-L21I/Q45K/A100G + conector 20 AA	64	+5.5
4G7_L1.155_H1.52_20AA_conector_scFv_6X-His	Orientación inversa y conector 20 AA	61	+2.5
4G7_L1.198_H1.226_20AA_conector_scFv_6X-His	VH-K43G/Q64K + VL-L21I/Q45K/A100G + conector 20 AA y orient. invers	66	+7.5
4G7_L1.198_H1.227_20AA_conector_scFv_6X-His	VH-K43G/Q64K/I75K/M89V + VL-L21I/Q45K/A100G + conector 20 AA y orient. invers	67	+8.5
4G7_L1.199_H1.227_20AA_conector_scFv_6X-His	VH-K43G/Q64K/I75K/M89V + VL-L21I/Q45K/M51A/A100G + conector 20 AA y orient. invers.	68	+9.5
4G7_L1.200_H1.227_20AA_conector_scFv_6X-His	VH-K43G/Q64K/I75K/M89V + VL-L21I/Y34S/Q45K/A100G + conector 20 AA y orient. invers.	72	+13.5

Figura 20A

Variantes de scFv anti-CD19 estabilizadas

4G7 H1.52 L1.155 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
 YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.155 scFv sin His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
 YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 L1.155 H1.52 scFv 6X-His

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDF
 AVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLE
 WIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSSHHHHHH

4G7 L1.155 H1.52 scFv sin His

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDF
 AVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLE
 WIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS

4G7 H1.211 L1.155 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
 YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.211 L1.155 scFv sin His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
 YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.212 L1.155 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
 YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.212 L1.155 scFv sin His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
 YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

Figura 20B

4G7 H1.213 L1.155 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLV^KPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSKSTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPIITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.213 L1.155 scFv sin His

EVQLVESGGGLV^KPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSKSTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPIITFGAGTKLEIK

4G7 H1.214 L1.155 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLV^KPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSTSTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPIITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.214 L1.155 scFv sin His

EVQLVESGGGLV^KPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSTSTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPIITFGAGTKLEIK

4G7 H1.215 L1.155 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLV^KPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISRDKSKSTAYMELSSLR
RSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNG
NTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPIITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.215 L1.155 scFv sin His

EVQLVESGGGLV^KPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISRDKSKSTAYMELSSLR
RSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNG
NTYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPIITFGAGTKLEIK

4G7 H1.216 L1.155 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLV^KPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMQLSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPIITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.216 L1.155 scFv sin His

EVQLVESGGGLV^KPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMQLSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPIITFGAGTKLEIK

Figura 20C

4G7 H1.217 L1.155 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMKLSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.217 L1.155 scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMKLSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.218 L1.155 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.218 L1.155 scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.219 L1.155 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNGGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.219 L1.155 scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNGGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.221 L1.155 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMEMSSL
RSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNG
NTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.221 L1.155 scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMEMSSL
RSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNG
NTYLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

Figura 20D

4G7 H1.222 L1.155 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYGMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.222 L1.155 scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYGMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.223 L1.155 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.223 L1.155 scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.225 L1.197 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.225 L1.197 scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.52 L1.176 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPASLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.176 scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPASLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

Figura 20E

4G7 H1.52 L1.177 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLV~~K~~PGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGT~~L~~TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRSSKSLQNVNGN
 TYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.177 scFv sin His

EVQLVESGGGLV~~K~~PGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGT~~L~~TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSVSPGERATLSCRSSKSLQNVNGN
 TYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.52 L1.178 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLV~~K~~PGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGT~~L~~TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNT
 YLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.178 scFv sin His

EVQLVESGGGLV~~K~~PGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGT~~L~~TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNT
 YLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.52 L1.179 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLV~~K~~PGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGT~~L~~TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGN
 TYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.179 scFv sin His

EVQLVESGGGLV~~K~~PGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGT~~L~~TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGN
 TYLYWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.52 L1.180 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLV~~K~~PGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGT~~L~~TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
 YLAWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.180 scFv sin His

EVQLVESGGGLV~~K~~PGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGT~~L~~TVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
 YLAWFQQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

Figura 20F

4G7 H1.52 L1.181 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLSWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.181 scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLSWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.52 L1.182 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLNWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.182 scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLNWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.52 L1.183 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLDWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.183 scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLDWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.52 L1.184 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWYQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.184 scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWYQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

Figura 20G

4G7 H1.52 L1.185 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.185 scFv sin His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.52 L1.186 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.186 scFv sin His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.52 L1.187 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLQSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.187 scFv sin His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLQSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.52 L1.188 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLESGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.188 scFv sin His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPGQSPQLLIYRMSNLESGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

Figura 20H

4G7 H1.52 L1.189 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWQQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKQPGQSPQLLIYRMSNLFSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.189 scFv sin His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWQQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKQPGQSPQLLIYRMSNLFSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.52 L1.190 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWQQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKQPGQSPQLLIYRMSNLD SGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.190 scFv sin His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWQQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKQPGQSPQLLIYRMSNLD SGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.52 L1.191 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWQQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKQPGQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.191 scFv sin His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWQQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKQPGQSPQLLIYRMSNLASGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

4G7 H1.52 L1.192 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWQQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKQPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.192 scFv sin His

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISDDKSISTAYMELSSLR
SEDAMYYCARGTYYYGTRVFDYWQQGTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKQPGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYPITFGAGTKLEIK

Figura 20I

4G7 H1.52 L1.194 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVLPKPGGSLKLSCAASGYFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPKGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYIPITFGGQTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.194 scFv sin His

EVQLVESGGGLVLPKPGGSLKLSCAASGYFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPKGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYIPITFGGQTKLEIK

4G7 H1.52 L1.195 scFv 6X-His

EVQLVESGGGLVLPKPGGSLKLSCAASGYFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPKGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYIPITFGGQTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 L1.195 scFv sin His

EVQLVESGGGLVLPKPGGSLKLSCAASGYFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVNGNT
YLYWFQKPKGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYIPITFGGQTKLEIK

4G7 H1.52 conector alterno L1.155 de scFv 6X His

EVQLVESGGGLVLPKPGGSLKLSCAASGYFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSVEGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVN
GNTYLYWFQKPKGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYIPITFGAGTKLEIKGSHHHHHH

4G7 H1.52 conector alterno L1.155 de scFv sin His

EVQLVESGGGLVLPKPGGSLKLSCAASGYFTSYVMHWVRQAPGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFQGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSVEGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATLSCRSSKSLQNVN
GNTYLYWFQKPKGQSPQLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFAVYYCMQHLEYIPITFGAGTKLEIK

4G7 L1.199 H1.227 conector de 20AA de scFv 6X His

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPKGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFA
VYYCMQHLEYIPITFGGQTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVLPKPGGSLKLSCAASGYFTSYVMHWVRQAP
GGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSSGHHHH
HH

4G7 L1.199 H1.227 conector de 20AA de scFv sin His

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPKGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFA
VYYCMQHLEYIPITFGGQTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVLPKPGGSLKLSCAASGYFTSYVMHWVRQAP
GGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSS

Figura 20J

4G7 H1.227 L1.198 conector de 20AA de scFv 6X His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLR
 SEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQN
 VNGNTLYWFQKPGQSPKLLIYRMSNLSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYIPITFGGGTKLEIKGSHHHH
 HH

4G7 H1.227 L1.198 conector de 20AA de scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLR
 SEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQN
 VNGNTLYWFQKPGQSPKLLIYRMSNLSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYIPITFGGGTKLEIK

4G7 H1.226 L1.198 conector de 20AA de scFv 6X His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQN
 VNGNTLYWFQKPGQSPKLLIYRMSNLSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYIPITFGGGTKLEIKGSHHHH
 HH

4G7 H1.226 L1.198 conector de 20AA de scFv sin His

EVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSISTAYMELSSLR
 SEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQN
 VNGNTLYWFQKPGQSPKLLIYRMSNLSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFAVYYCMQHLEYIPITFGGGTKLEIK

4G7 L1.155 H1.52 conector de 20AA de scFv 6X His

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSRSSKSLQNVNGNTLYWFQKPGQSPKLLIYRMSNLSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDF
 AVYYCMQHLEYIPITFGAGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQA
 PGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGSHHHH
 HH

4G7 L1.155 H1.52 conector de 20AA de scFv sin His

DIVMTQSPATLSLSPGERATLSRSSKSLQNVNGNTLYWFQKPGQSPKLLIYRMSNLSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDF
 AVYYCMQHLEYIPITFGAGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQA
 PGKGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSS

4G7 L1.198 H1.226 conector de 20AA de scFv 6X His

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTLYWFQKPGQSPKLLIYRMSNLSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTISLEPEDFA
 VYYCMQHLEYIPITFGGGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVQPKGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAP
 GGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQGLTVTVSSGSHHHH
 HH

Figura 20K

4G7 L1.198 H1.226 conector de 20AA de scFv sin His

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRMSNLSGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFA
VYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAP
GGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSISTAYMELSSLRSEDTAMYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS

4G7 L1.198 H1.227 conector de 20AA de scFv 6X His

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRMSNLSGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFA
VYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAP
GGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGSHHHH
HH

4G7 L1.198 H1.227 conector de 20AA de scFv sin His

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRMSNLSGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFA
VYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAP
GGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS

4G7 L1.200 H1.227 conector de 20AA de scFv 6X His

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLSWFQQKPGQSPKLLIYRMSNLSGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFA
VYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAP
GGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSGSHHHH
HH

4G7 L1.200 H1.227 conector de 20AA de scFv sin His

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLSWFQQKPGQSPKLLIYRMSNLSGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFA
VYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAP
GGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS

Figura 21

Variantes de Fv anti-CD19 estabilizadas

VH (4G7_H1.227)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLR
SEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSS

VL (4G7_L1.198)

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFA
VYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIK

VL (4G7_L1.199)

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFA
VYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIK

Figura 22A

Variantes de scFv duales con regiones variables anti-CD19 estabilizadas

4G7_L1.199_H1.227_20AA_conector_scFv_SP34_H1L1.4_scFv_Fc(216)_IgG1_pl_ISO(-)-pl_ISO(+RR)_C220S/
G236R/L328R

Cadena pesada 1 (4G7_L1.199_H1.227_conector 20AA_scFv-Fc(216)_IgG1_pl_ISO(-)_C220S/G236R/L328R)

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLVESGGGLVPGGSLKLSCAASGY
TFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTR
VFDYWGQGLTVTSSEPKSSDKTHTCPPCPAPELLRGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYV
DGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKARPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPG

Cadena pesada 2 (SP34_H1L1.4_scFv_Fc(216)_IgG1_pl_ISO(+RR)_C220S/G236R/L328R)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGQAVVTQEPSLTV
SPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTLSGAQPEDEAEYYC
ALWYSNLWVFGGGTKLTVLERKSSDKTHTCPRCPAPELLRGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFK
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKARPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

Figura 22B

4G7_H1.227_L1.198_20AA_conector_scFv_SP34_H1L1.4_scFv_Fc(216)_IgG1_pl_ISO(-)-pl_ISO(+RR)_C220S/
G236R/L328R

Cadena pesada 1 (4G7_H1.227_L1.198_conector_20AA_scFv-Fc(216)_IgG1_pl_ISO(-)_C220S/G236R/L328R)

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKST
AYMELSSLRSEDAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGTGLTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIVMTQSPATLSLS
PGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPKLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTSSLEPEDFAVYYCM
QHLEYPITFGGGTKLEIKPKSSDKTHTCPPCPAPELLRGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVQFNWY
VDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKARPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEE
MTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPPMLDSGSSFLYSLKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHN
HYTQKSLSLSPG

Cadena pesada 2 (SP34_H1L1.4_scFv_Fc(216)_IgG1_pl_ISO(+RR)_C220S/G236R/L328R)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGGGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVSSGGGGSGGGSGGGSGQAVVTQEPSTLV
SPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGAALTLSGAQPEDEAEYYC
ALWYSNLWVFGGGTKLTVLERKSSDKTHTCPRCPAPELLRGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFK
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKARPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSSFLYSLKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

Figura 23A

Variantes abridor de botella con Fv anti-CD19 estabilizadas

4G7_H1.227_L1.199_Fab-SP34_H1L1.4_scFv_Fc(216)_IgG1_pl_ISO(-)-pl_ISO(+RR)_C220S/G236R/L328R

Cadena pesada 1 (4G7 H1.227 IgG1 pl ISO(-) G236R/L328R)

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSKAASGYFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKST
AYMELSSLRSEDAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQYTCNVDPKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCTCPCPAPEL
LRGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKARPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNY
NTTPPMLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQEGRVFSQSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPG

Cadena pesada 2 (SP34 H1L1.4 scFv Fc(216) IgG1 pl ISO(+RR) C220S/G236R/L328R)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSKAASGFTFTNYAMNHWVRQAPGKGLWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQAVVTQEPSTLV
SPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGQAPRGLIGGTNKRAGVPARFSGSLLGGKAALTLGAQPEDEAEYYC
ALWYSNLWVFGGGTKLTVLERKSSDKTHCTPRCPAPPELLRGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFK
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKARPAIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (4G7 L1.199)

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Figura 23B

4G7_H1.227_L1.198_Fab-SP34_H1L1.4_scFv_Fc(216)_IgG1_pl_ISO(-)-pl_ISO(+RR)_C220S/G236R/L328R

Cadena pesada 1 (4G7_H1.227_IgG1_pl_ISO(-)_G236R/L328R)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLR
SEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGQTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTF
PAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLRGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEV
TCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKARPAIEKTISKAKGQPR
EPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNYNTTPMLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCVMH
EALHNHYTQKSLSLSPG

Cadena pesada 2 (SP34_H1L1.4_scFv_Fc(216)_IgG1_pl_ISO(+RR)_C220S/G236R/L328R)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFNTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDS
KNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGNSYVSWFAYWGGQTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSQAVVTQEPSTLV
SPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQQKPGQAPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLGGAALTLGAQPEDEAEYYC
ALWYSNLWVFGGGTKLTVLERKSSDKTHTCPRCPAPELLRGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFK
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKARPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCVMHEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (4G7_L1.198)

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRMSNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTISSELPEDFA
VYYCMQHLEYIPITFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS
TYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Figura 24A

XENP4547 (Bevacizumab - Avastina - IgG1 WT)

Cadena pesada (Bevacizumab -Avastina- WT - IgG1 Pesada)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (Bevacizumab Avastina LO)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPKGAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP12774 (Bevacizumab_IgG1_pl(-)_Isostérica_A)

Cadena pesada (Bevacizumab_IgG1_pl(-)_Isostérica_A)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESDGGQPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (Bevacizumab Avastina LO)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPKGAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Figura 24B

XENP12775 (Bevacizumab_IgG1_pl(-)_Isostérica B)

Cadena pesada (Bevacizumab_IgG1_pl(-)_Isostérica B)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (Bevacizumab_Avastina LO)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

XENP12776 (Bevacizumab_IgG1_pl(+)_Isostérica A)

Cadena pesada (Bevacizumab_IgG1_pl(+)_Isostérica A)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYYGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHQDPQVKFWYVDGVQVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (Bevacizumab_Avastina LO)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNFFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Figura 24C

XENP12777 (Bevacizumab_IgG1_pl(+)_Isostérica_B)

Cadena pesada (Bevacizumab_IgG1_pl(+)_Isostérica_B)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHQDPQVKFNWYVDGQVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (Bevacizumab_Avastina_LO)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSAQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPRKAVQWVKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP12778 (Bevacizumab_IgG1_pl(-)_Isostérica_A_pl(+)_Isostérica_A)

Cadena pesada 1 (Bevacizumab_IgG1_pl(-)_Isostérica_A)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESDGGQPE
NNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2 (Bevacizumab_IgG1_pl(+)_Isostérica_A)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHQDPQVKFKWYVDGQVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Figura 24D

Cadena ligera (Bevacizumab .Avastina LO)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIVFTSSLSHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP12779 (Bevacizumab_IgG1_pl(-)_Isostérica_A_pl(+)-Isostérica_B)

Cadena pesada 1 Bevacizumab_IgG1_pl(-)_Isostérica A)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESDGGQPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDFVSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2 (Bevacizumab_IgG1_pl(+)_Isostérica B)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHQDPQVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera Bevacizumab .Avastina LO)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIVFTSSLSHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISSLQPE
DFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSSTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP12780 (Bevacizumab_IgG1_pl(-)_Isostérica_B_pl(+)-Isostérica_A)

Cadena pesada 1(Bevacizumab_IgG1_pl(-)_Isostérica B)

Figura 24E

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2 (Bevacizumab IgG1 pl(+), Isostérica A)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHQDPQVKFKWYVDGVQVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREQMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (Bevacizumab Avastina LO)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKSDSTYLSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP12781 (Bevacizumab IgG1 pl(-), Isostérica B pl(+)-Isostérica B)

Cadena pesada 1 (Bevacizumab IgG1 pl(-), Isostérica B)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVL
HQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPE
NNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2 (Bevacizumab IgG1 pl(+), Isostérica B)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC

Figura 24F

PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHQDPQVKFNWYVDGVQVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (Bevacizumab ,Avastina LO)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFGSGSGTDFLTISLQPE
DFATYYCQQYSTVPWTFGQGTKEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP12876 (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(-) Isostérica A pl(+), Isostérica A)

Cadena pesada 1 (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(-) Isostérica A)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
EYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
SDIAVEWESDQGPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2 (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(+) Isostérica A)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHQDPQVKFNWYVDGVQVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGF
YPSDIAVEWESNGQGPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP12877 (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(-) Isostérica A pl(+), Isostérica B)

Cadena pesada 1 (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(-) Isostérico A)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
EYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
SDIAVEWESDQGPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2 (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(+) Isostérica B)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHQDPQVKFNWYVDGVQVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQGPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Figura 24G

XENP12878 (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(-) Isostérica B pl(+) Isostérica A)

Cadena pesada 1 (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(-) Isostérica B)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
EYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP
SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2 (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(+) Isostérica A)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHQDPQVKFNWYVDGQVQVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
YPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP12879 (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(-) Isostérica B pl(+) Isostérica B)

Cadena pesada 1 (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(-) Isostérica B)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
EYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
SDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2 (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(+) Isostérica B)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHQDPQVKFNWYVDGQVQVHNAKTKPRE
EQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP12948 (Bevacizumab_IgG1_pl(+/-)_Isostérica_E272Q/E283Q)

Cadena pesada (Bevacizumab IgG1 pl(+) Isostérica E272Q/E283Q)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFNHYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYHGSSHWYFDVWGQGLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPQVKFNWYVDGQVQVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT

Figura 24H

VLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (Bevacizumab Avastina LO)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP12949 (Bevacizumab IgG1 pl(+/-) Isostérica E269Q/E283Q))

Cadena pesada (Bevacizumab IgG1 pl(+) Isostérica E269Q/E283Q))

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHQDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (Bevacizumab Avastina LO)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQYSTVPWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDYSTLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP12950 (Bevacizumab IgG1 pl(+/-) Isostérica E269Q/E272Q)

Cadena pesada (Bevacizumab IgG1 pl(+) Isostérica E269Q/E272Q)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFKRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRAEDTAVYYCAKYPHYGGSSHWYFDVWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTWSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHQDPQVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT

Figura 24I

VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQ
PENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (Bevacizumab Avastina LO)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQYSTVPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP12951 (Bevacizumab IgG1 pl(+/-) Isostérica E269Q)

Cadena pesada (Bevacizumab IgG1 pl(+/-) Isostérica E269Q)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGYFTFTNYGMNWVRQAPGKGLEWVGWINTYTGEPTYAADFRRFTFSLDTSKS
TAYLQMNSLRADTAIVYCAKYPHYGSSHWYFDVWVGQGTLLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
FPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHQDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTV
LHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQP
ENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (Bevacizumab Avastina LO)

DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCSASQDISNYLNWYQQKPGKAPKVLIIYFTSSLHSGVPSRFSGSGSGTDFTLTISLQPE
DFATYYCQQYSTVPWTFGGGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNS
QESVTEQDSKDSYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP12952 (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(+/-) Isostérica E272Q/E283Q)

Cadena pesada (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(+/-) Isostérica E272Q/E283Q)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPQVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Figura 24J

XENP12953 (Fc(216) vacío_IgG1_C220S_pl(+/-)_Isostérica_E269Q/E283Q)

Cadena pesada (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(+/-) Isostérica E269Q/E283Q)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHQDPEVKFNWYVDGQVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP12954 (Fc(216) vacío_IgG1_C220S_pl(+/-)_Isostérica_E269Q/E272Q)

Cadena pesada (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(+/-) Isostérica E269Q/E272Q)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHQDPQVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

XENP12955 (Fc(216) vacío_IgG1_C220S_pl(+/-)_Isostérica_E269Q)

Cadena pesada (Fc(216) vacío IgG1 C220S pl(+/-) Isostérica E269Q)

EPKSSDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHQDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREE
QYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFY
PSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFLLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

**XENP13228 (4G7_H1.227_L1.199_Fab-SP34_H1.30_L1.47_scFv_Fc(216)_IgG1_PVA_/S267K_pl(-)
)_Isostérica_A_WT_IgG1_C220S)**

Cadena pesada 1 (4G7_H1.227_IgG1_pl(-) Isostérica A PVA /S267K)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISDDKSKST
AYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESDQGPENNYKT
TPPVLDSGDSFLLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Figura 24K

Cadena pesada 2 (SP34 H1.30 L1.47 scFv Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQAVVTQEPSLTVS
PGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCA
LWYSNHWVFSGGGLTVLEPKSSDKTHCPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (4G7 L1.199)

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Figura 25

Regiones variables anti-CD19 estabilizadas - unión competitiva con IgG1 anti-CD19 marcada @ 1 µg/mL

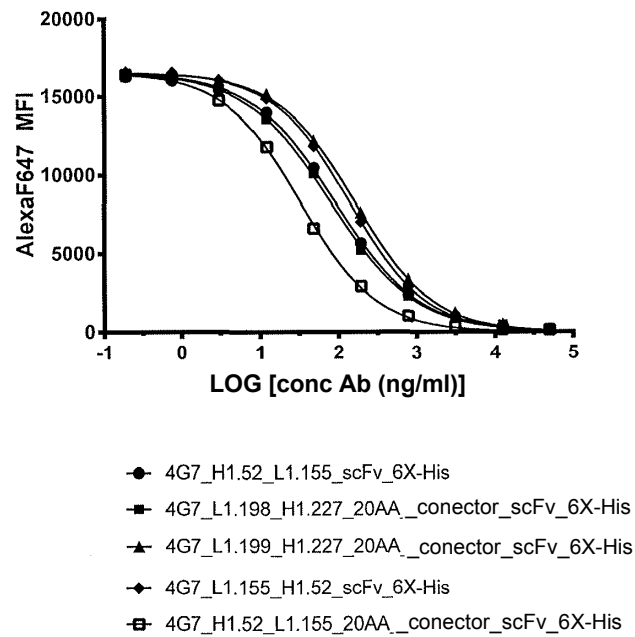
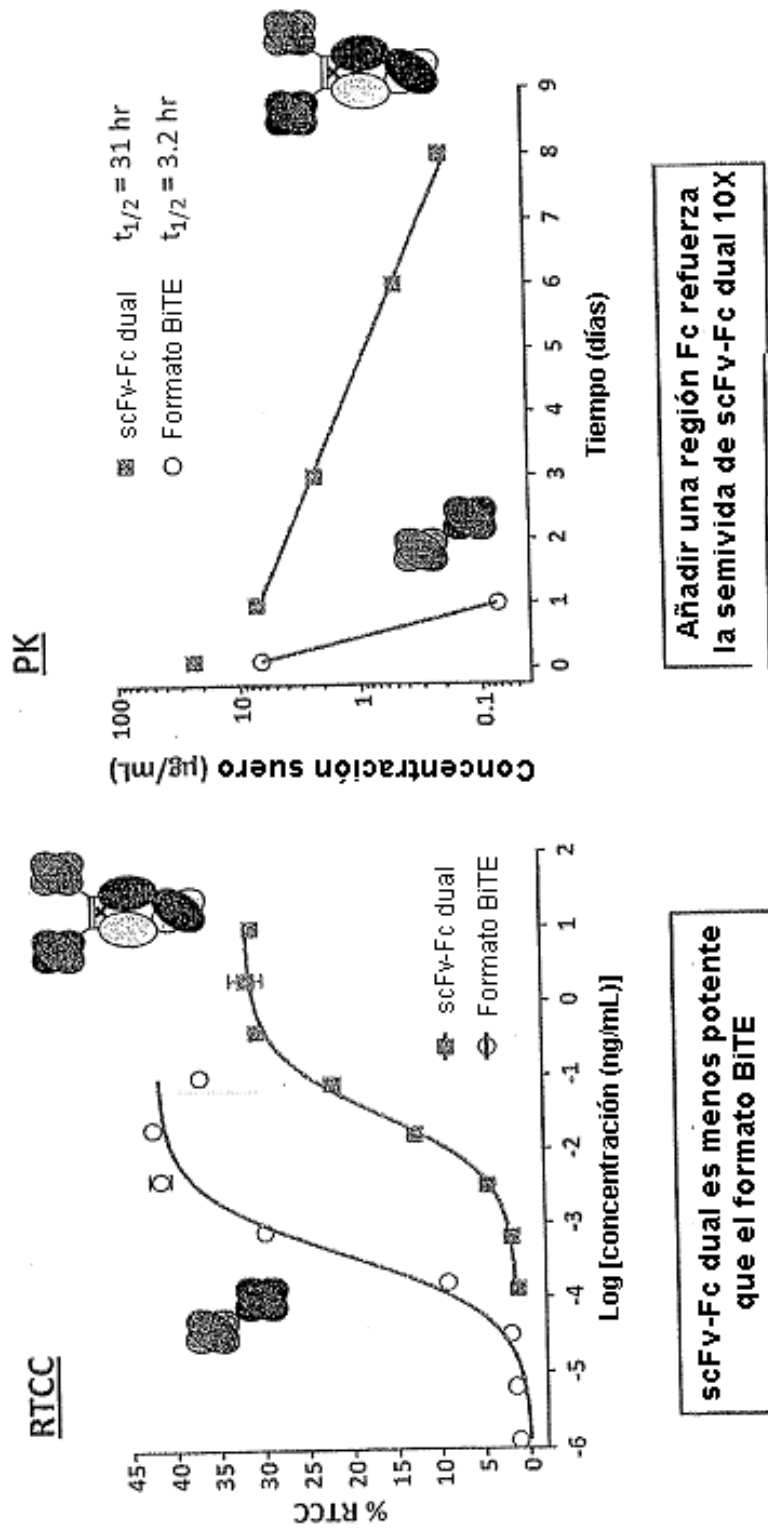
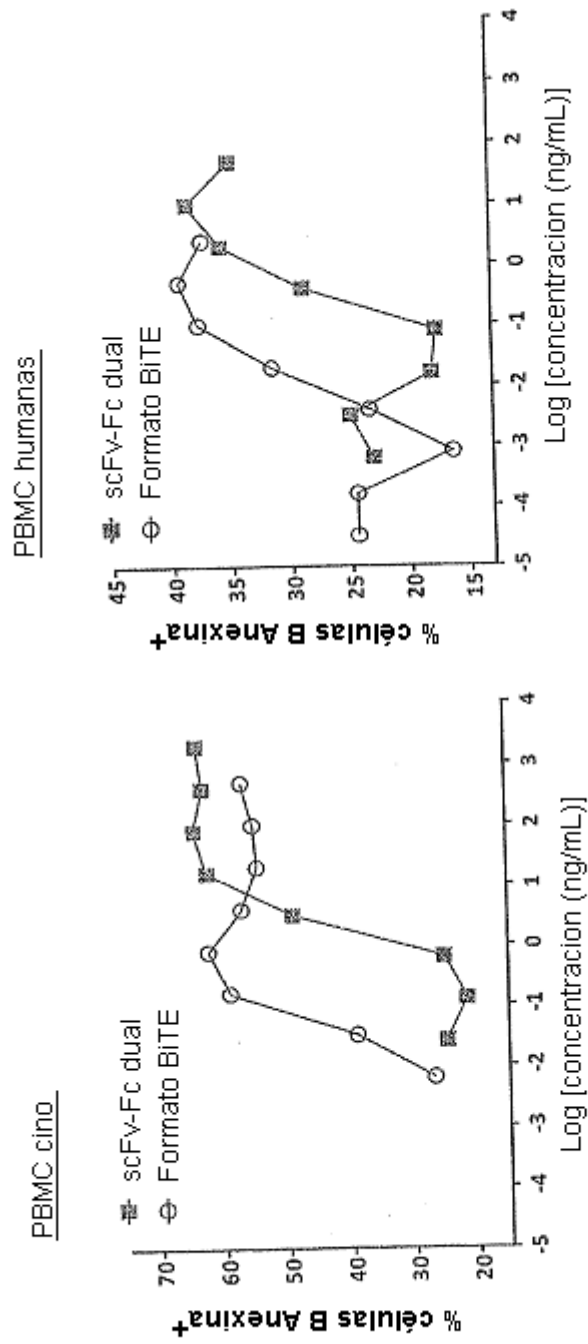


Figura 26



Ensayo LDH RTCC fluorescente (24 horas). Células Raji 10K + células T 400 k, razón E:T 40:1 Bolo IV 2 mg/kg en ratones BL/6 hemizigotos hFcRn Tg276 (n=6). 4 de 6 ratones BLQ (<70 ng/mL) por 24 h para formate BiTE Semividas determinadas en Phoenix WinNonlin 6.1 por análisis no compartimental.

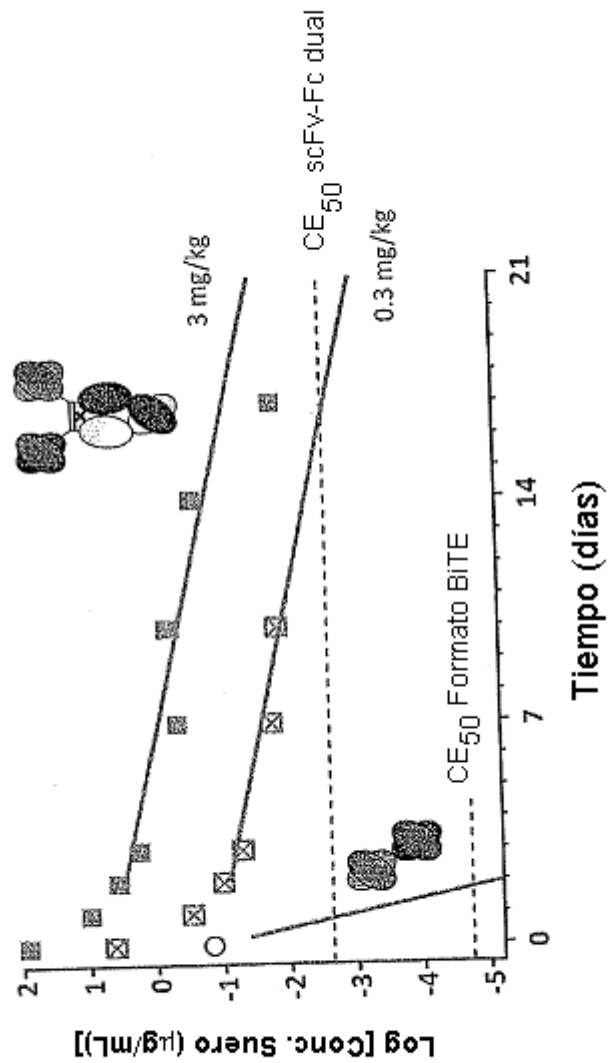
Figura 27



La diferencia de potencia entre los formatos se traslada a cino.

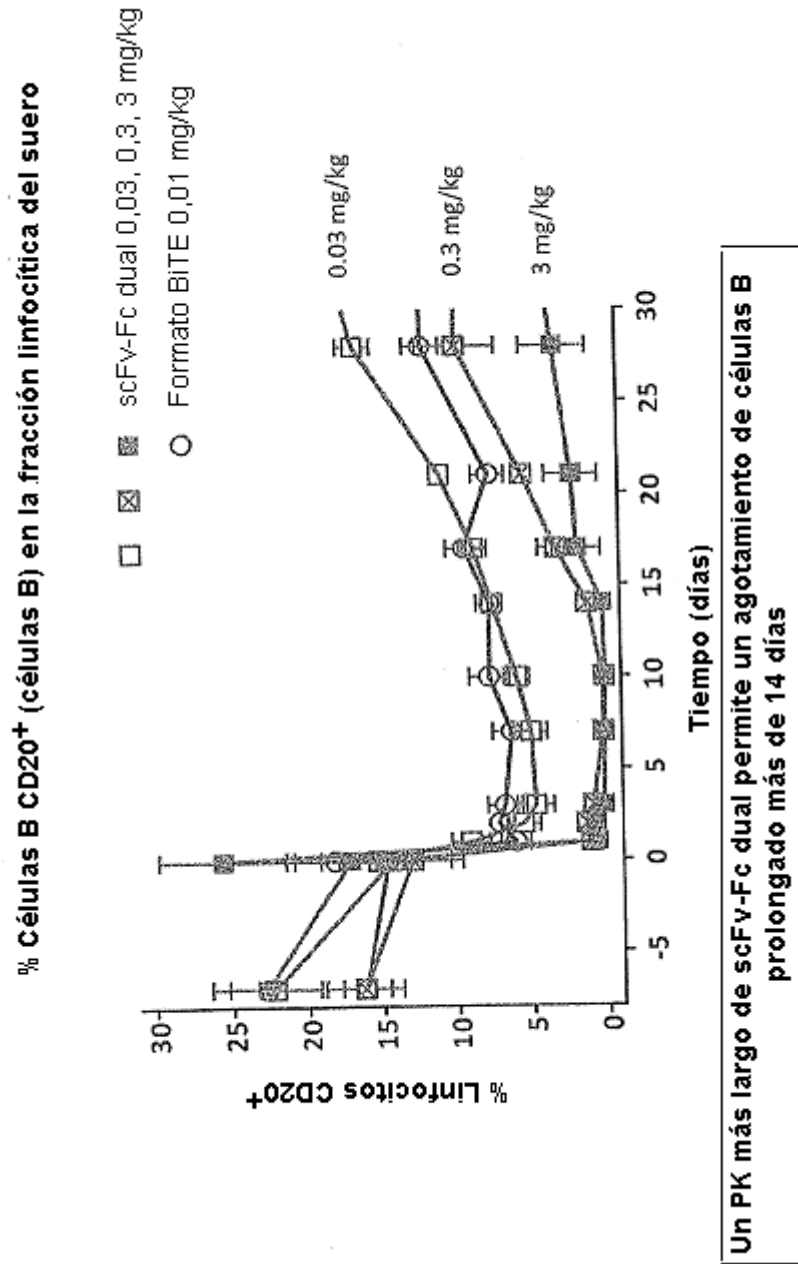
Ensayo RTCC de anexina (24 h) en células B CD20⁺ en PBMC humanas o de cino 400 k

Figura 29



Duración de concentración en suero > CE₅₀ más larga para scFv-Fc dual frente a formato BITE
2-3 semanas frente a 2-3 días

Figura 30

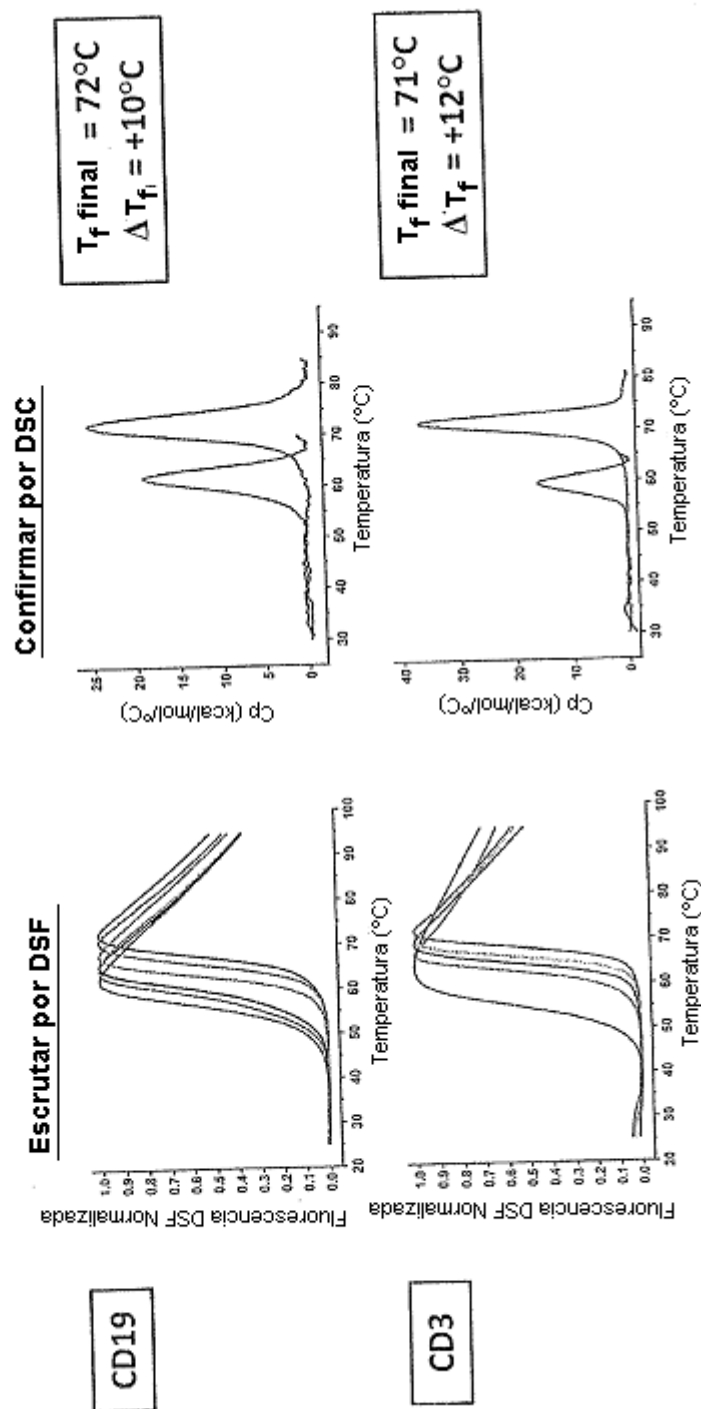


Bolo IV individual en monos cinomolgos (n=3)

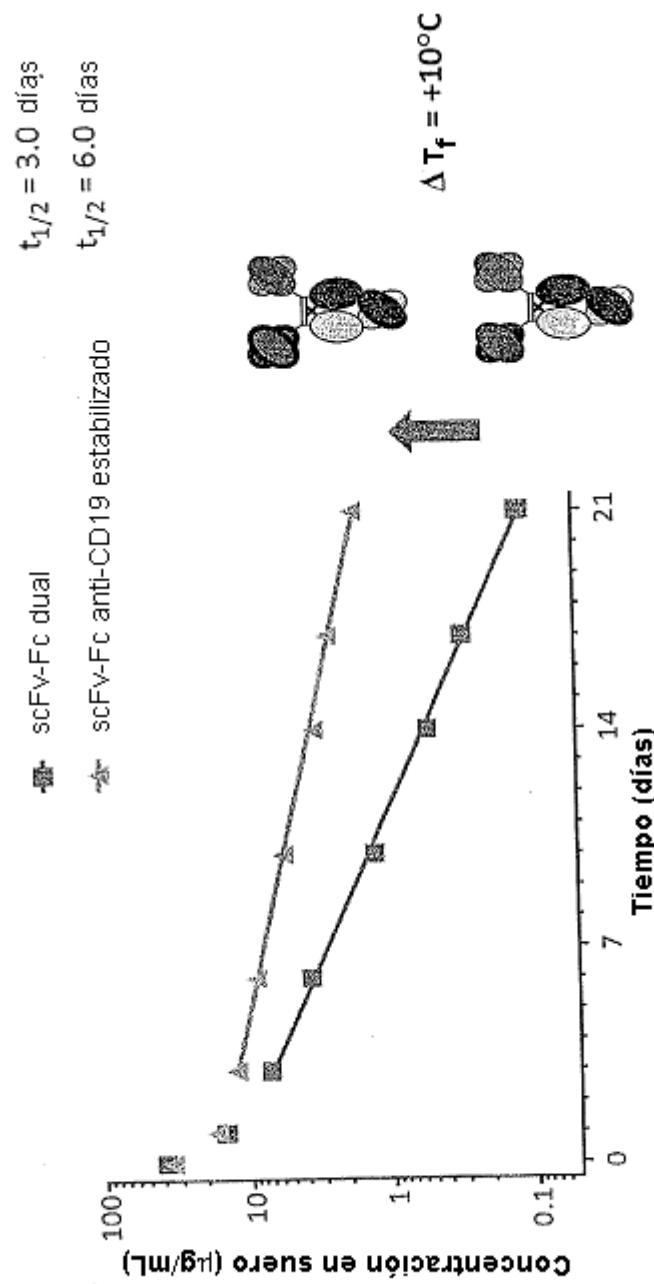
Figura 31

El enfoque:

- Identificar/remplazar aminoácidos raros
- Identificar/remplazar aminoácidos con residuos de contacto inusuales
- Modificación genética conector
- Conversión en orientación VL-VH



DSF: scFv a 0,2-0,9 mg/ml, tasa calentamiento $1^\circ\text{C}/\text{min}$. DSC: scFv a 0,18-0,25 mg/ml, tasa calentamiento $1,5^\circ\text{C}$

Figura 32

Estabilizar el scFv anti-CD19 duplica la semivida en ratones BL/6 de 3 a 6 días

Ratones BL/6 ($n=5$), 2 mg/kg dosis IV. Semividas determinadas en Phoenix WinNonlin 6.1 por análisis no compartimental

Figura 33

- Separación en columna simple de heterodímeros de los homodímeros
- No se requiere limpieza: La cromatografía de exclusión por tamaño no muestra material o agregados de elevado peso molecular

Purificación

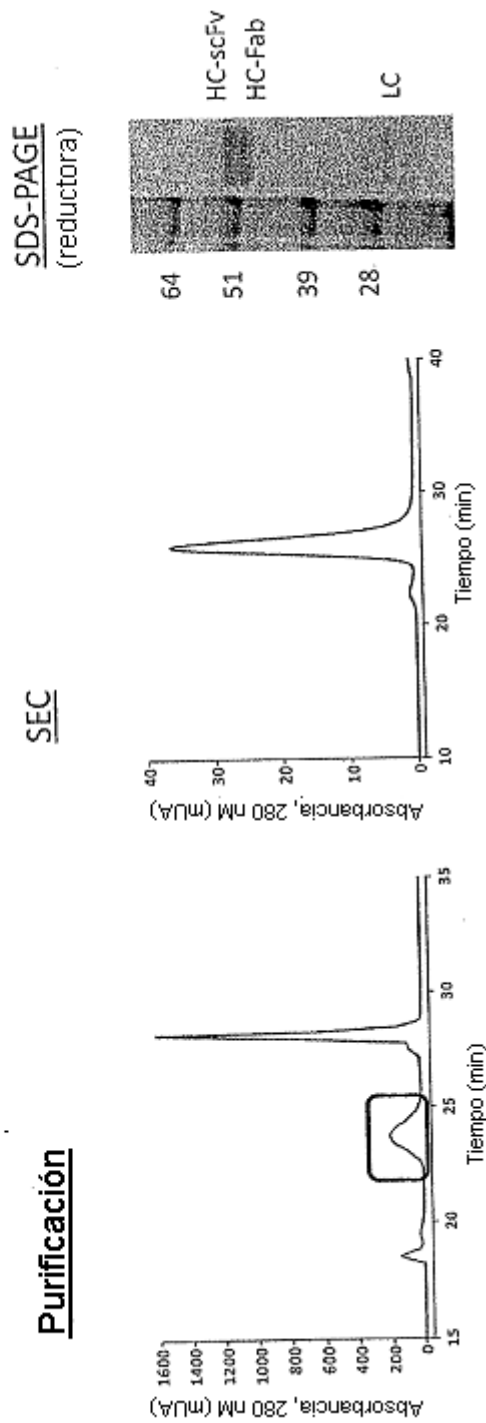
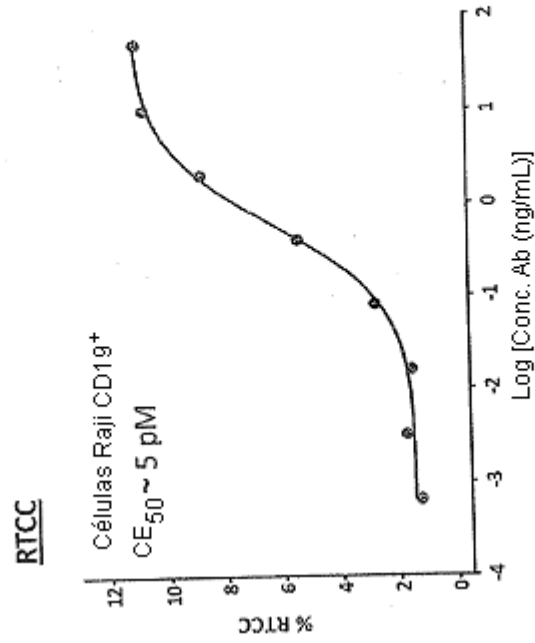
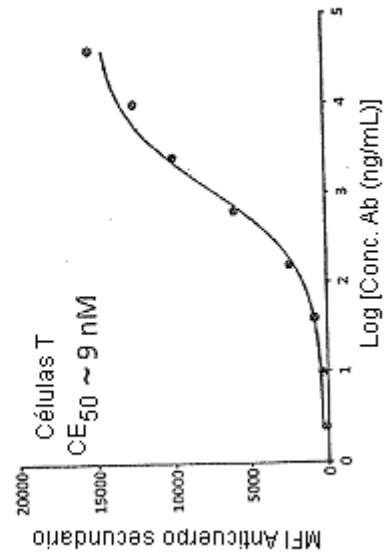
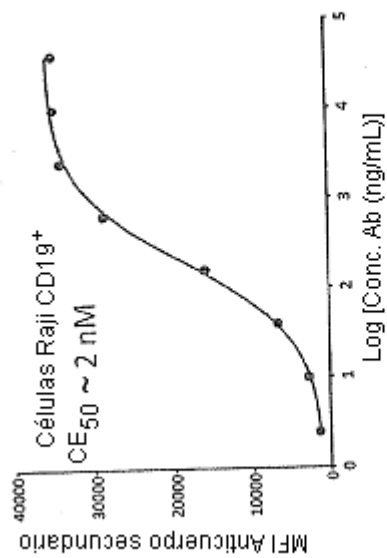


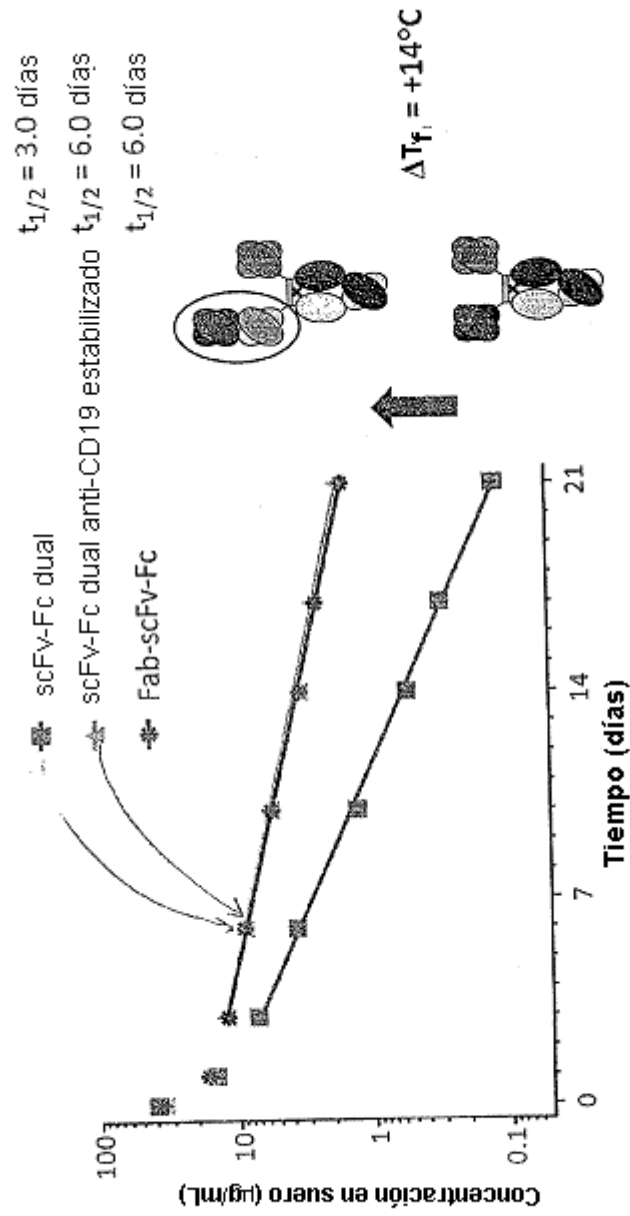
Figura 34

Unión superficie celular



Fab-scFv-Fc media la citotoxicidad picomolar pese a unirse solamente monovalentemente a las dianas

Ensayo LDH RTCC fluorescente (24 h). Células Raji 10 k + células T 400 k, razón E:T 40:1

Figura 35

Reemplazar el scFv anti-CD19 por un Fab duplica la semivida en ratones BL/6 de 3 a 6 días

Ratones BL/6 ($n=5$), 2 mg/kg dosis IV. Semividas determinadas en Phoenix WinNonlin 6.1 por análisis no compartimental

Figura 36

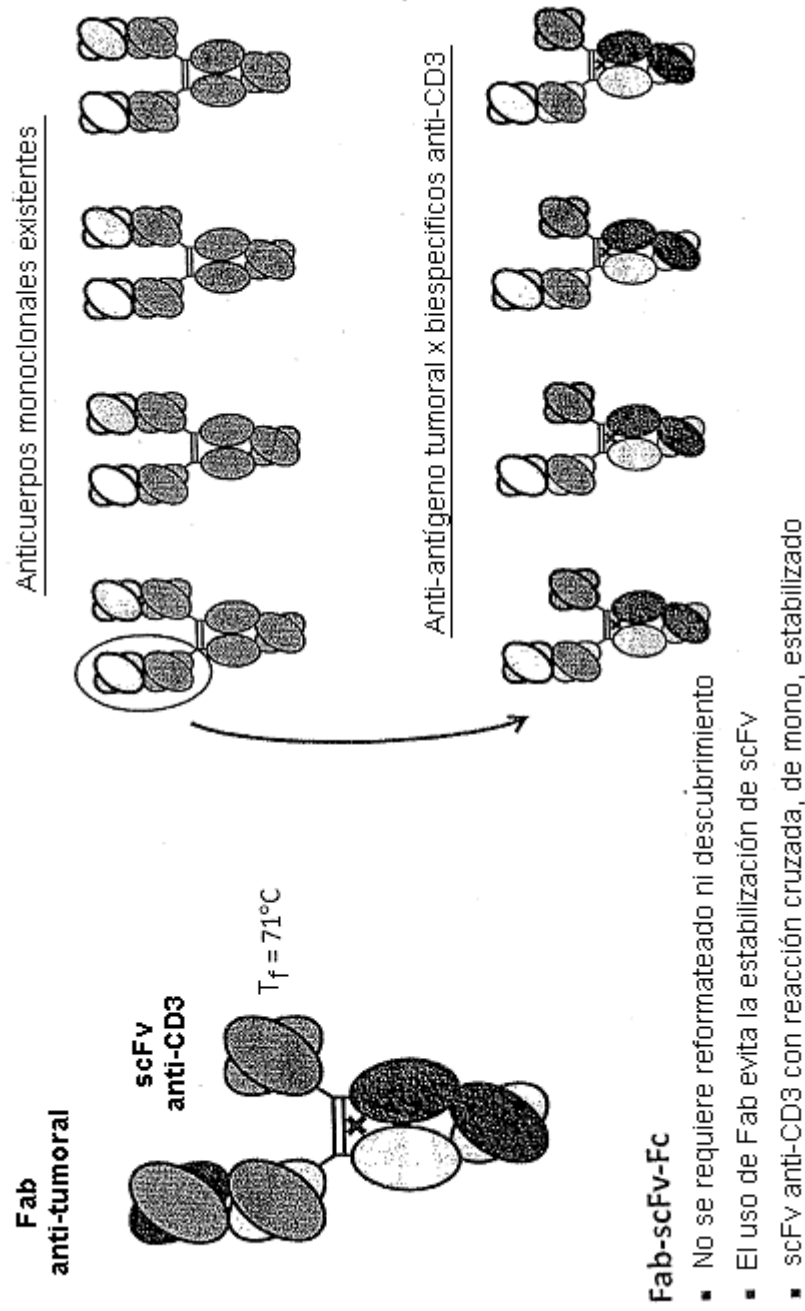


Figura 37A

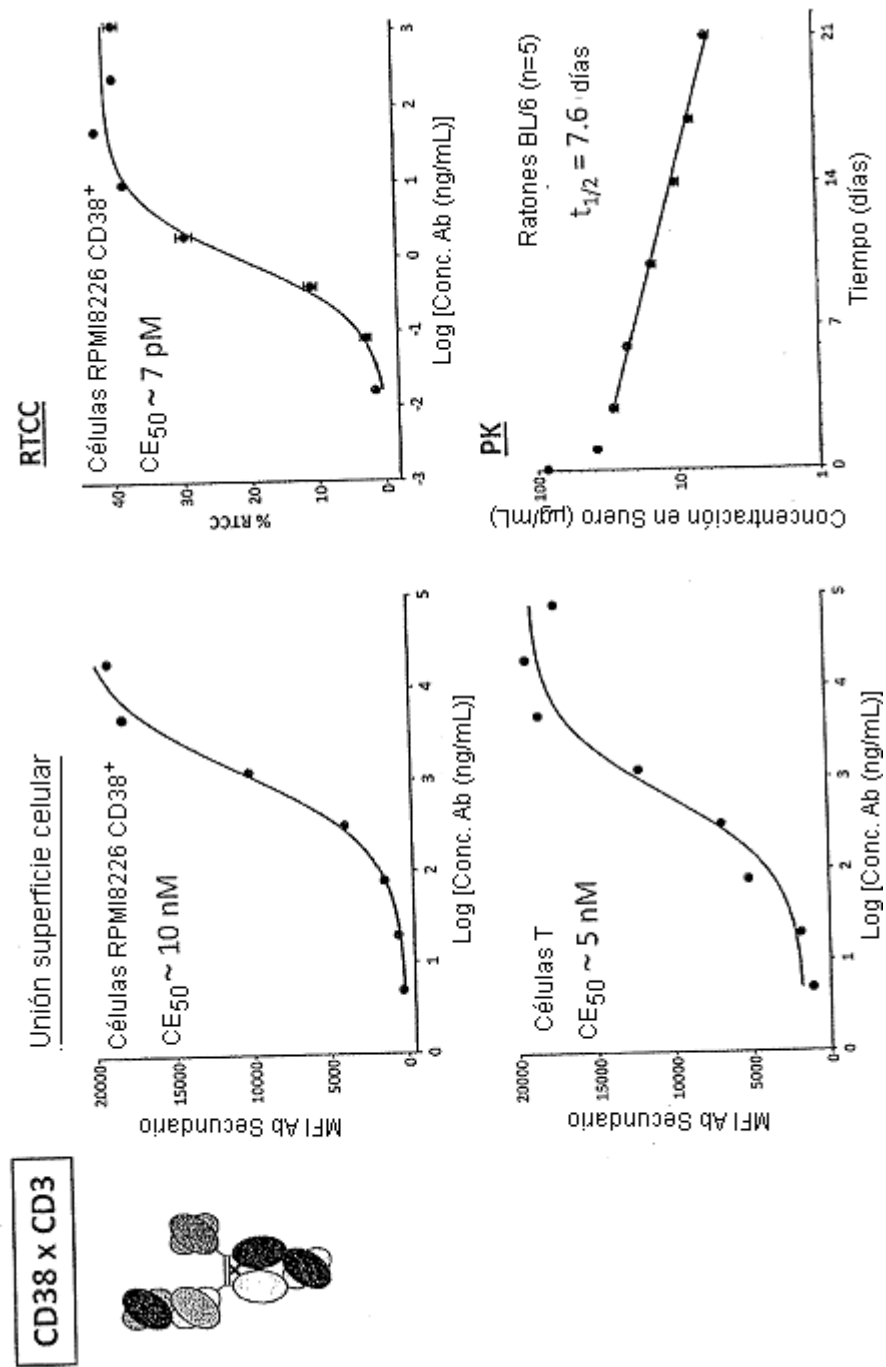


Figura 37B

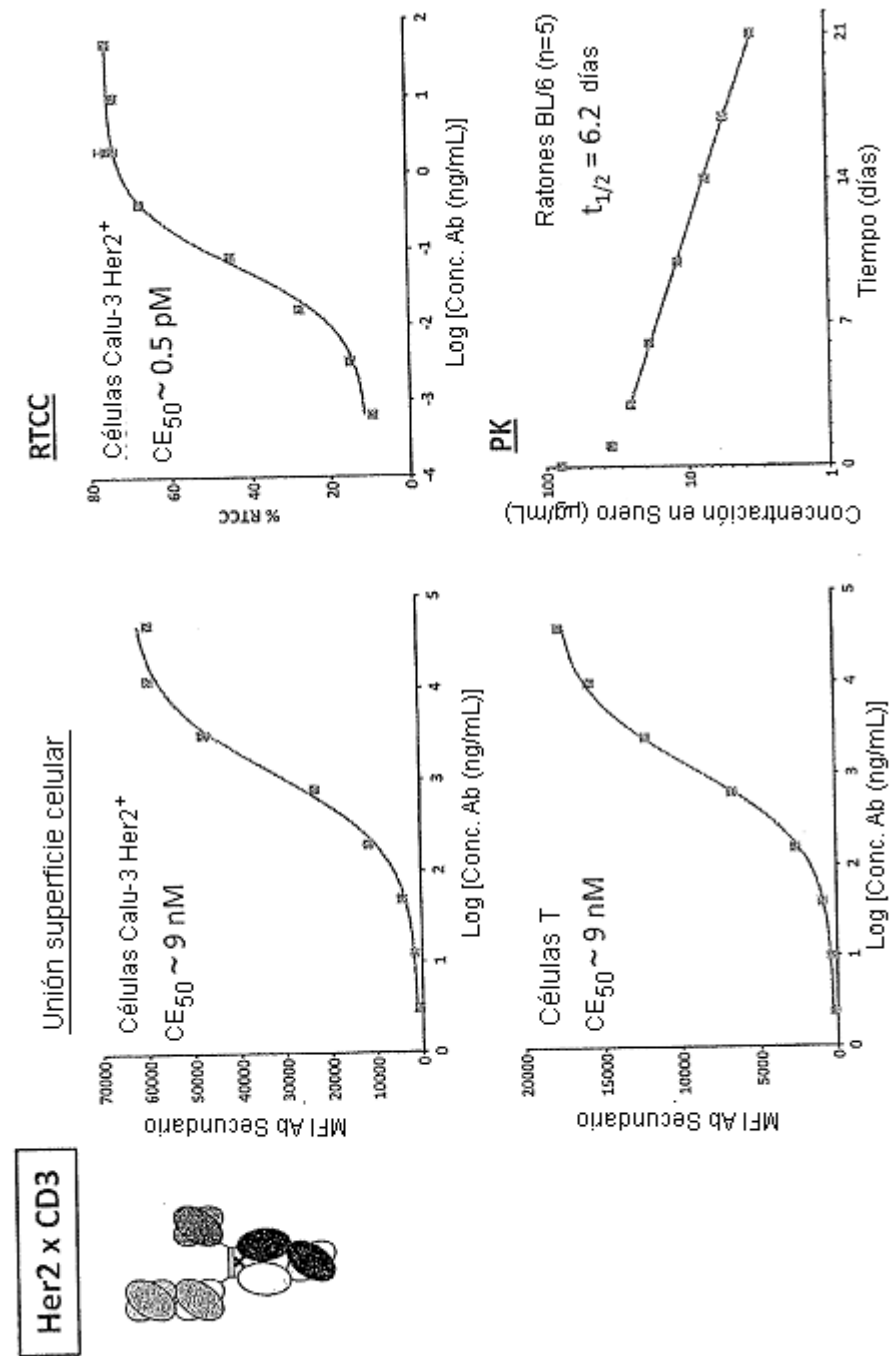


Figura 38

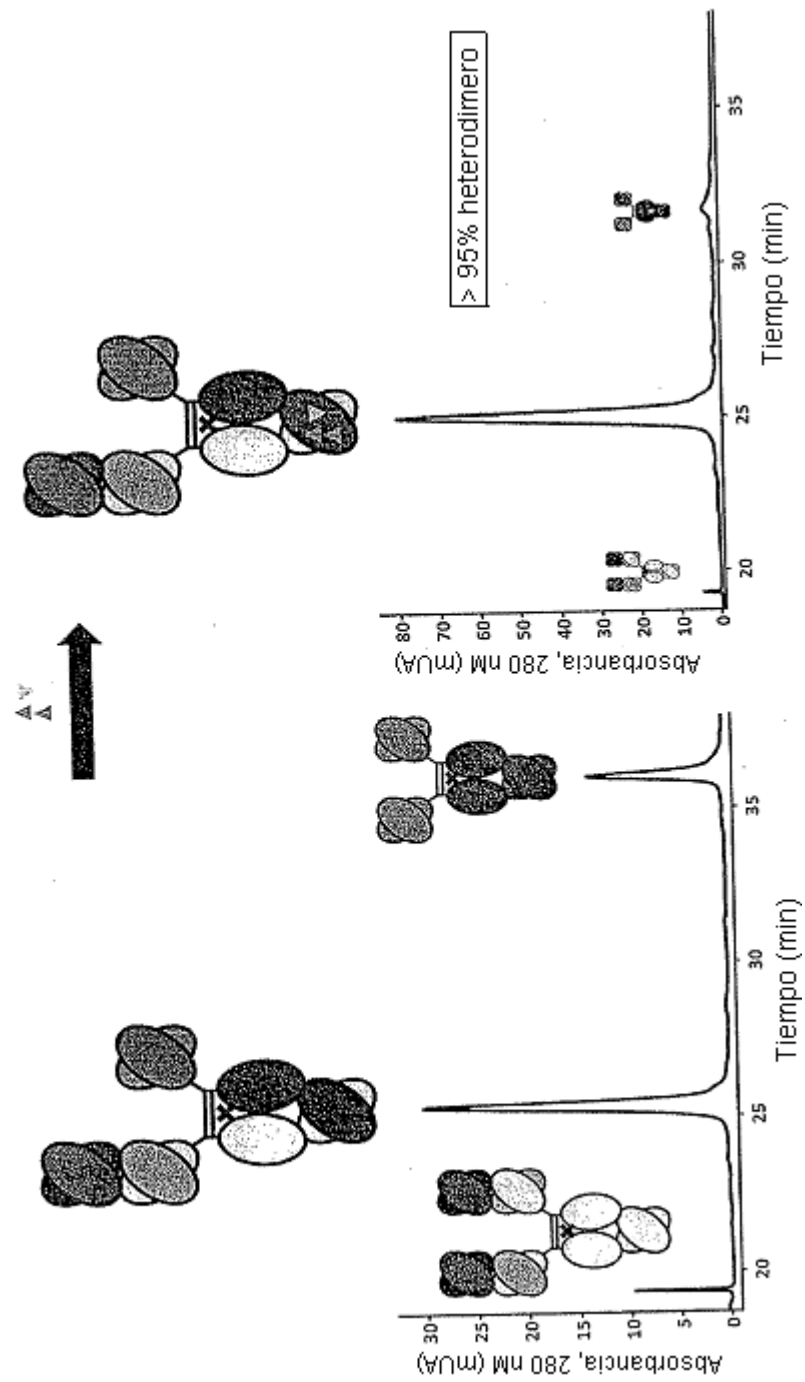
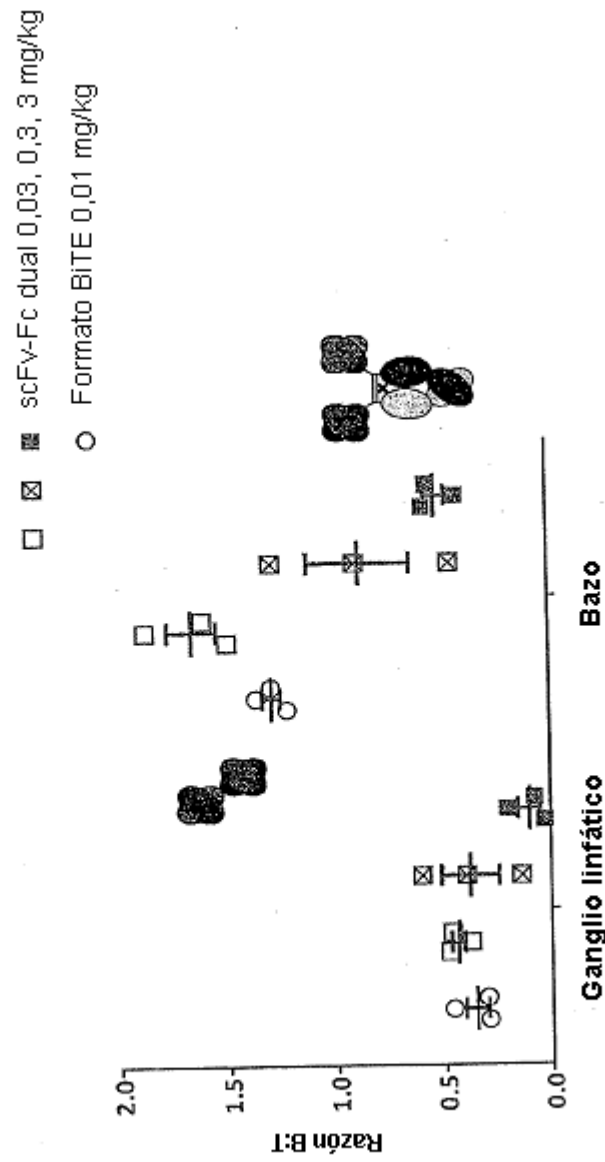


Figura 39

Razon células B con respecto a T (CD20⁺:CD4⁺ y CD8⁺) en ganglio linfático y bazo 36 días después de una sola dosis



scFv-Fc dual es suficientemente potente para agotar células B en compartimentos sin suero

Bolo IV individual en monos cinomolgos (n=3)

Figura 40

Proteína núm.	Nombre	pI Calculado	
		homodímero 1	homodímero 2
12778	Bevacizumab_IgG1_pl(-)_isotérica_A-pl(+)_isotérica_A	6.77	8.12
12779	Bevacizumab_IgG1_pl(-)_isotérica_A-pl(+)_isotérica_B	6.77	8.04
12780	Bevacizumab_IgG1_pl(-)_isotérica_B-pl(+)_isotérica_A	7.02	8.19
12781	Bevacizumab_IgG1_pl(-)_isotérica_B-pl(+)_isotérica_B	7.02	8.12
12876	vacio -Fc(216)_IgG1_C220S_pl(-)_isotérica_A-pl(+)_isotérica_A	6.01	7.34
12877	vacio -Fc(216)_IgG1_C220S_pl(-)_isotérica_A-pl(+)_isotérica_B	6.01	7.00
12878	vacio -Fc(216)_IgG1_C220S_pl(-)_isotérica_B-pl(+)_isotérica_A	6.20	7.68
12879	vacio -Fc(216)_IgG1_C220S_pl(-)_isotérica_B-pl(+)_isotérica_B	6.20	7.34
13228	4G7_H1.227_L1.199_Fab-SP34_H1.30_L1.47_scFv_Fc(216)_IgG1_PVA_5267K_pl(-)_isotérica_A_WT-IgG1_C2205	7.84	8.38
			8.81

Figura 41

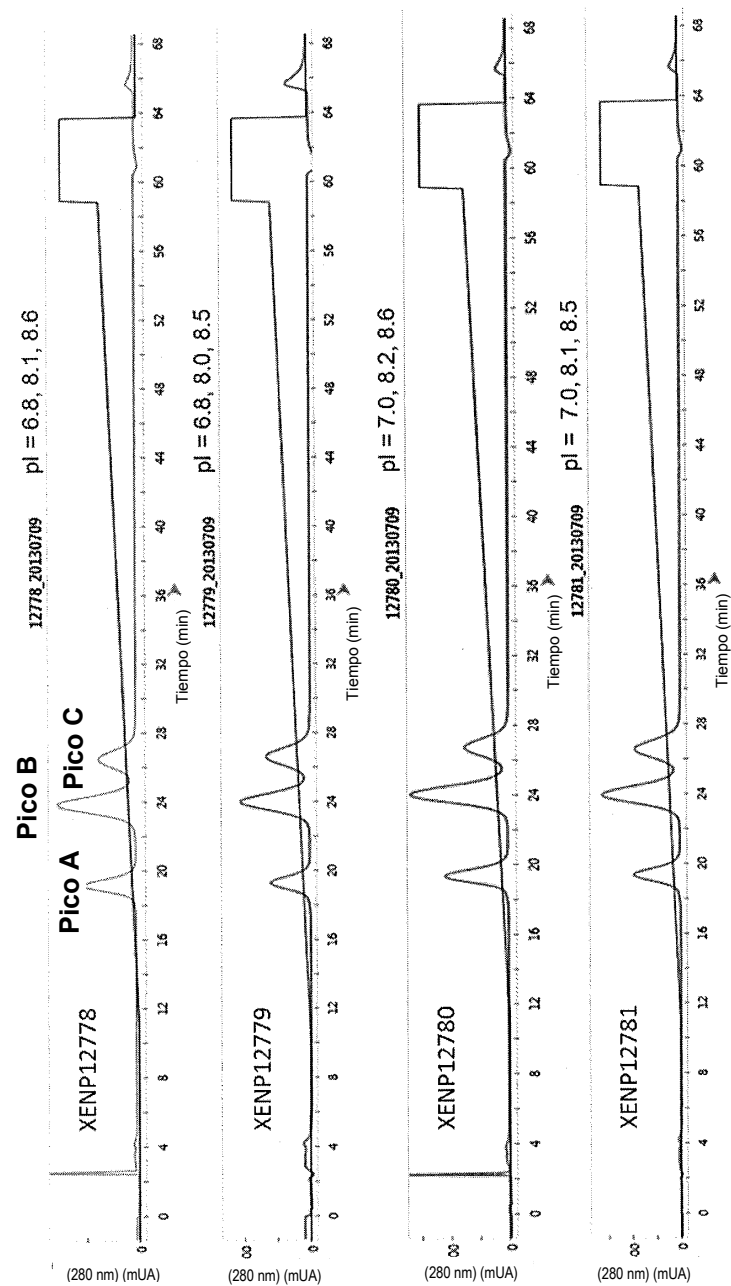


Figura 42

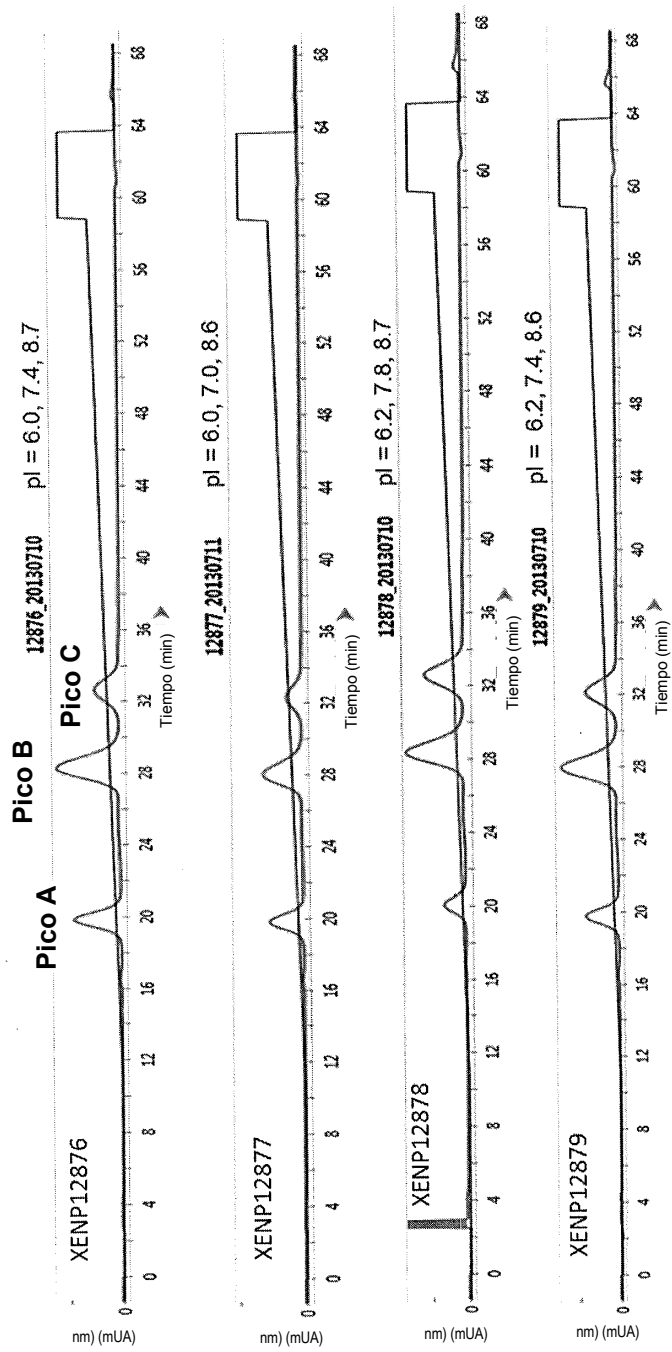


Figura 43

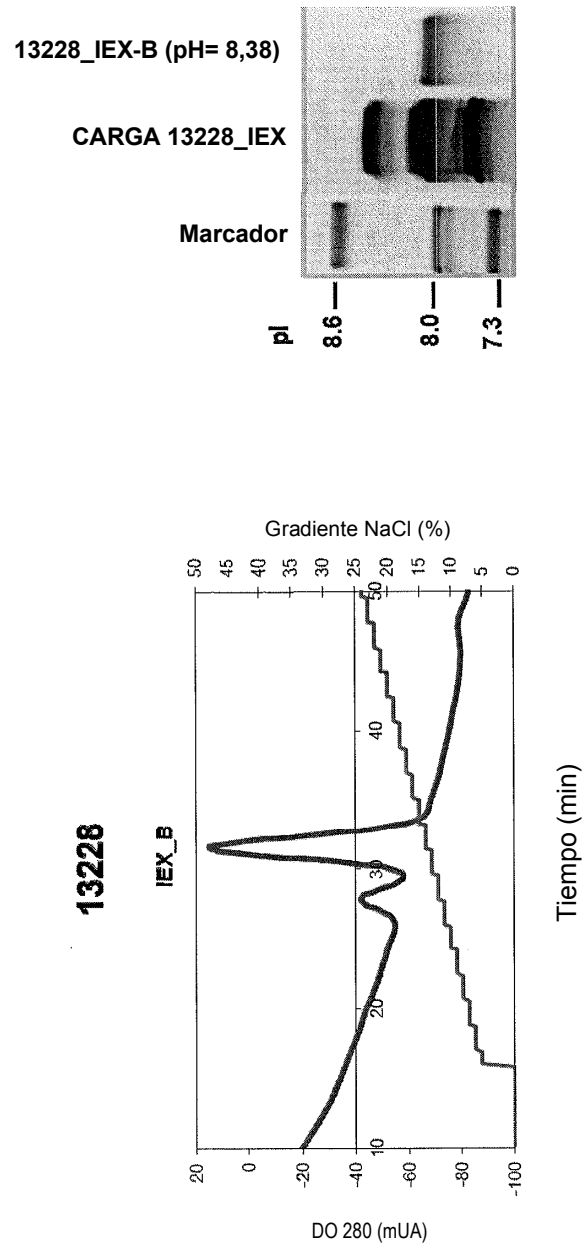


Figura 44

XENP	Variante	Subs	T _r	Δ T _r
4547	Bevacizumab - Avastin - IgG WT	WT	68.5	
12774	Bevacizumab_IgG1_pl(-)_Isotérica_A	N208D Q295E N384D Q418E N421D	69.0	0.5
12775	Bevacizumab_IgG1_pl(-)_Isotérica_B	N208D Q295E Q418E N421D	68.5	0.0
12776	Bevacizumab_IgG1_pl(+)_Isotérica_A	E269Q E272Q E283Q E357Q	60.0	-8.5
12777	Bevacizumab_IgG1_pl(+)_Isotérica_B	E269Q E272Q E283Q	60.0	-8.5
12948	Bevacizumab_IgG1_pl(+)/Isotérica E272Q/E283Q	E272Q E283Q	60.5	-8.0
12949	Bevacizumab_IgG1_pl(+)/Isotérica E269Q/E283Q	E269Q E283Q	63.5	-5.0
12950	Bevacizumab_IgG1_pl(+)/Isotérica E269Q/E272Q	E269Q E272Q	64.5	-4.0
12951	Bevacizumab_IgG1_pl(+)/Isotérica E269Q	E269Q	68.5	0.0
12952	vacio -Fc(216)_IgG1_C220S_pl(+)/Isotérica E272Q/E283Q	E272Q E283Q	59.5	-9.0
12953	vacio -Fc(216)_IgG1_C220S_pl(+)/Isotérica E269Q/E283Q	E269Q E283Q	63.5	-5.0
12954	vacio -Fc(216)_IgG1_C220S_pl(+)/Isotérica E269Q/E272Q	E269Q E272Q	64.0	-4.5
12955	vacio -Fc(216)_IgG1_C220S_pl(+)/Isotérica E269Q	E269Q	67.5	-1.0

Figura 45

XENP	Variante	Secuencia de conector	SEQ. ID NO	Longitud	Carga	T _{r1} (°C)
12241	CD3_H1.30_L1.47_scFv_His	GGGGGGGGGGGG		15	0	68.0
12782	CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+A)	IRPRAIGGSKPRVA		14	+4	66.0
12783	CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+B)	GKGGGKGGGKGG		15	+3	68.0
12784	CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+C)	GGGSGGKGGGKGS		15	+3	68.0
12785	CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+D)	GGGSGGKGGGKGS		15	+3	68.5
12786	CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+E)	GKGSKGKSGKGKS		15	+6	68.5
12787	CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+F)	GGGSGGKGGGKGG		15	+3	68.0
12788	CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+G)	GKPGSKPGSGKPGS		15	+3	68.0
12789	CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+H)	GKPGSKPGSGKPGSGKPGS		20	+4	69.0
12790	CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+I)	GKGSKGKSGKGKSGKGS		20	+8	69.5
11869	4G7_L1.199_H1.227_20AA_conector_scFv_6x-His	GGGGGGGGGGGGGGGG		20	0	67.5
12791	4G7_L1.199_H1.227_14AA_conector_(A)_scFv_6x-His	STAGDTHLGGEDFD		14	-4	64.5
12792	4G7_L1.199_H1.227_15AA_conector_(B)_scFv_6x-His	GEGSGEGSGEGGS		15	-3	66.0
12793	4G7_L1.199_H1.227_15AA_conector_(C)_scFv_6x-His	GEGSGEGSGEGGS		15	-3	66.5
12794	4G7_L1.199_H1.227_15AA_conector_(D)_scFv_6x-His	GGGSGGSGGGGGES		15	-3	67.0
12795	4G7_L1.199_H1.227_15AA_conector_(E)_scFv_6x-His	GEGSGEGSGEGES		15	-6	65.5
12796	4G7_L1.199_H1.227_15AA_conector_(F)_scFv_6x-His	GGGSGGSGGGGGES		15	-3	66.5
12801	4G7_L1.199_H1.227_20AA_conector_(G)_scFv_6x-His	GEGSGEGSGEGSGEGES		20	-8	67.0

Figura 46

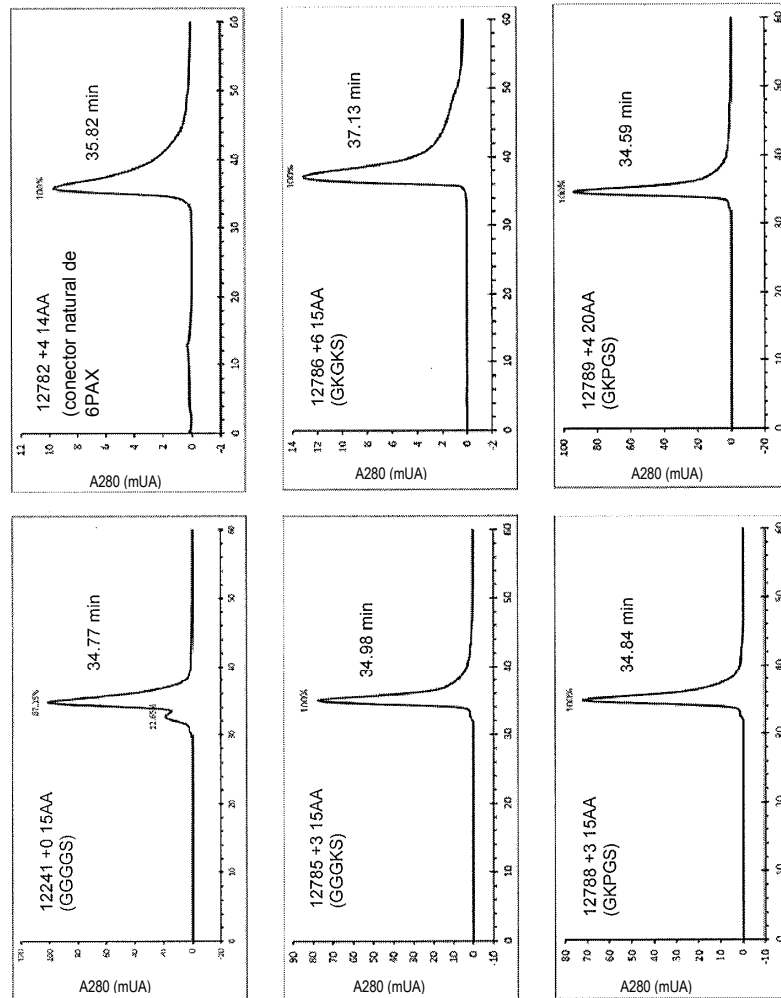


Figura 47

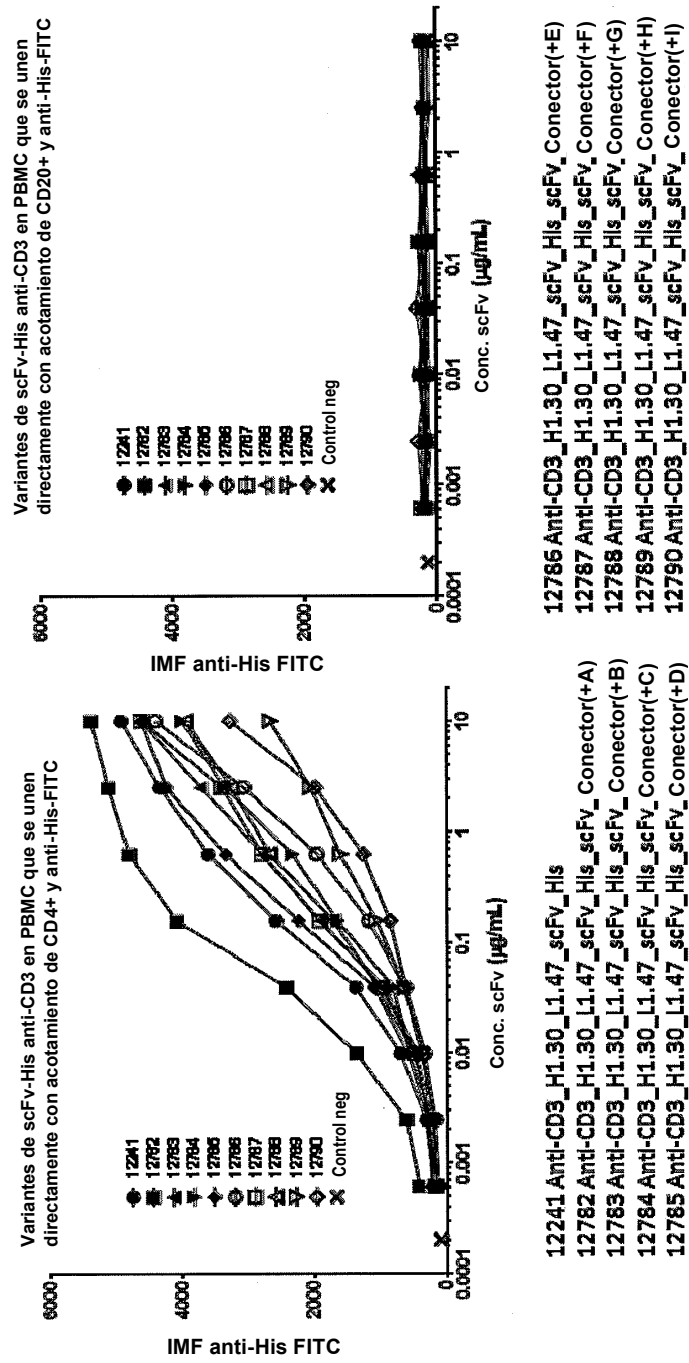


Figura 48

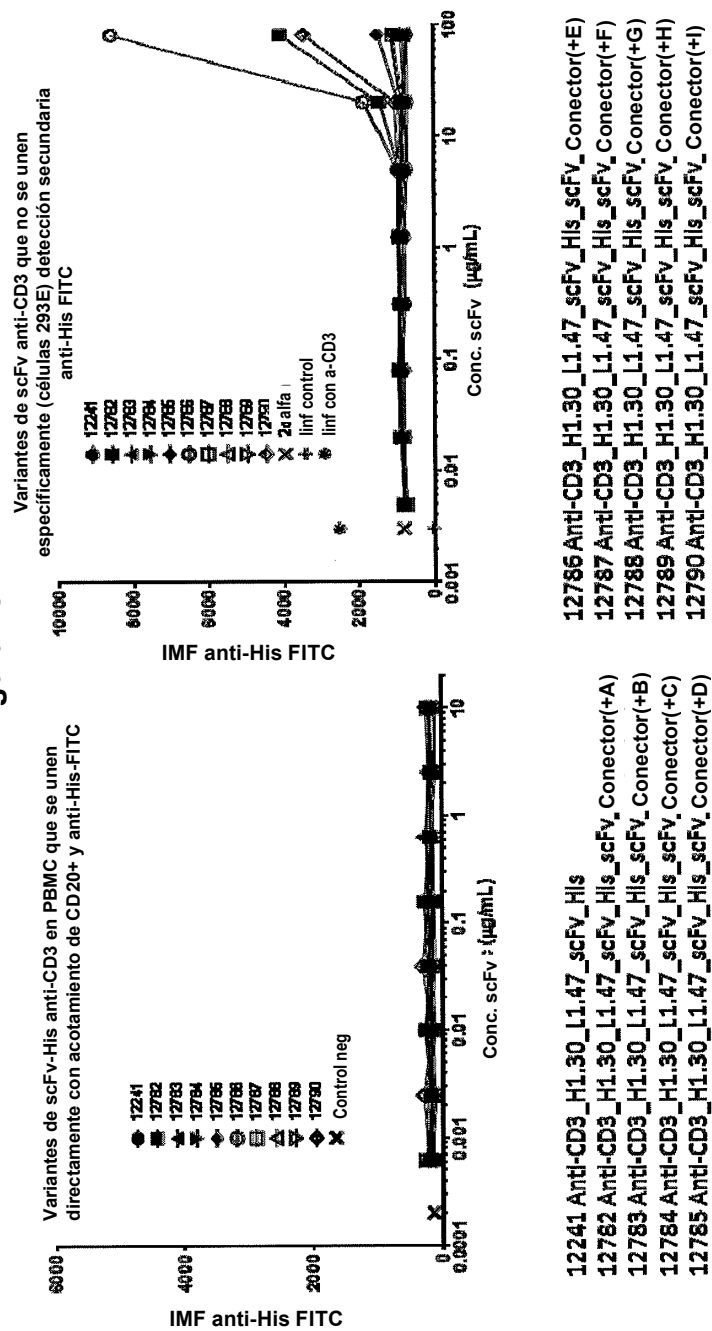


Figura 49

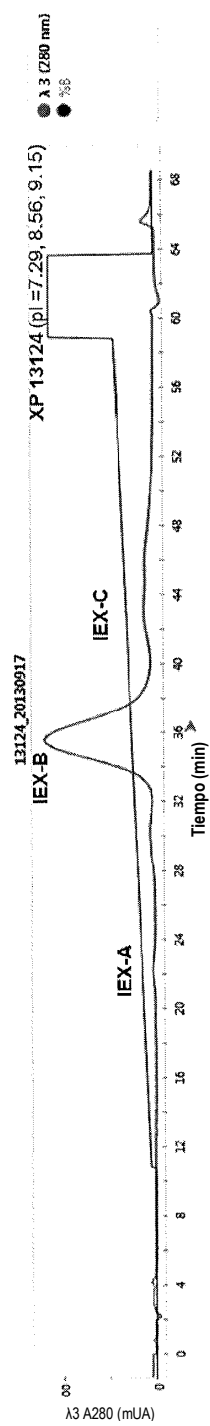


Figura 50

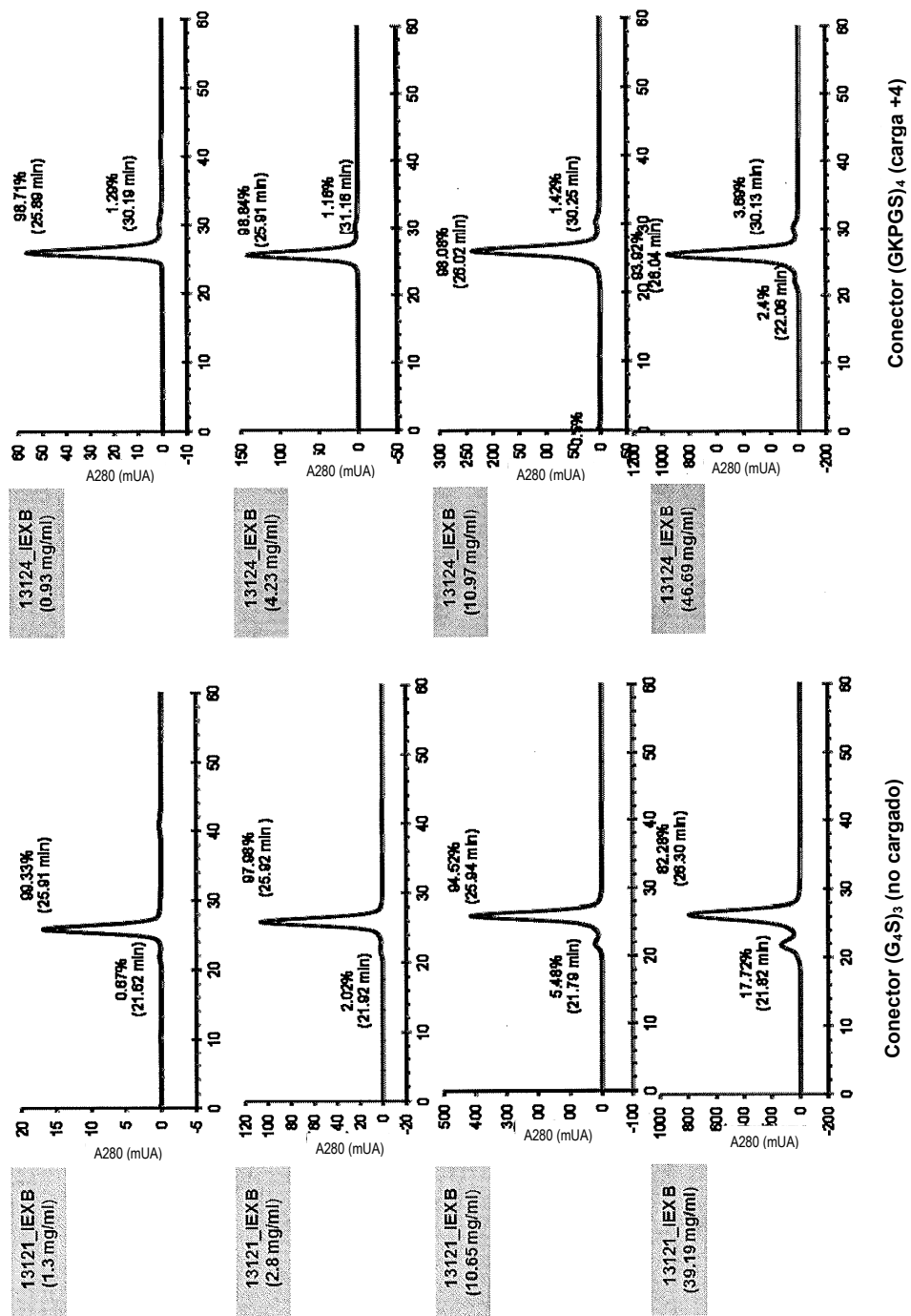


Figura 51

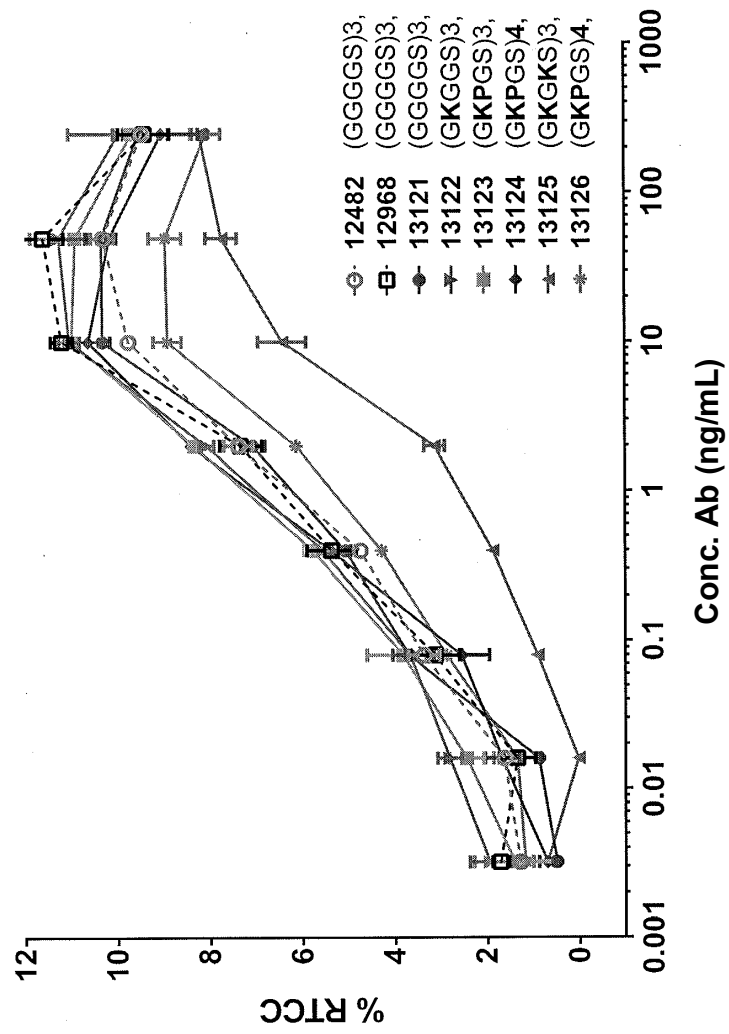


Figura 52A

XENP11869 (4G7_L1.199_H1.227_20AA_conector_scFV_6X-His)

Fv Cadena sencilla (4G7 L1.199 H1.227 conector 20AA scFV 6X-His)

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVKGPGSLKLSAASGY
TFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTR
VFDYWGGGTLTVSSSGHHHHHH

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLVESGGGLVKGPGSLKLSAASGY
TFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTR
VFDYWGGGTLTVSSSG

XENP12241 (CD3_H1.30_L1.47_scFv_His)

Fv Cadena sencilla (CD3 H1.30 L1.47 scFv His)

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSQAVVTQEPSTLVS
PGGTVTLCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEADYYCA
LWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSQAVVTQEPSTLVS
PGGTVTLCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEADYYCA
LWYSNHWVFGGGTKLTVLGS

Figura 52B

**XENP12482 (4G7_H1.227_L1.199_Fab-CD3_H1.30_L1.47_scFv_Fc(216)_IgG1_pl_ISO(-)-
pl_ISO(+RR)_C220S/FcKO)**

SEQ ID NO:X

Cadena pesada 1 (4G7 H1.227 IgG1 pl ISO(-) G236R/L328R)

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTTYNEKFKGRVTISSDKSKST
AYMELSSLRSEDTAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYTCNVDPKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPEL
LRGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNQKEYKCKVSNKARPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESSGQPENNY
NTTPPMLESDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPG

SEQ ID NO:X

Cadena pesada 2 (CD3 H1.30 L1.47 scFv Fc(216) IgG1 pl ISO(+RR) C220S/G236R/L328R)

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSQAVVTQEPSTVS
PGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCA
LWYSNHWVFGGGTKLTVLERKSSDKTHTCPRCAPPELLRGSPVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFK
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNQKEYKCKVSNKARPAIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEAL
HNHYTQKSLSLSPGK

SEQ ID NO:X

Cadena ligera (4G7 L1.199)

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVNPDVDFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

XENP12782 (CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+A))

Fv cadena sencilla (CD3 H1.30 L1.47 scFv His scFvConector(+A))

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSIRPRAIGGSKPRVAQAVVTQEPSTVSPGG
TVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWY
SNHWVFGGGTKLTVLGS~~HHHHHH~~

Figura 52C

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSIRPRAIGGSKPRVAQAVVTQEPSLTVSPGG
TVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCALWY
SNHWVFGGGTKLTVLG

XENP12783 (CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_ scFvConector(+B))

Fv cadena sencilla (CD3 H1.30 L1.47 scFv His scFvConector(+B))

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKGGSGKGGSGKGGSQAVVTQEPSLTVSP
GGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKGGSGKGGSGKGGSQAVVTQEPSLTVSP
GGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWVFGGGTKLTVLG

XENP12784 (CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_ scFvConector(+C))

Fv cadena sencilla (CD3 H1.30 L1.47 scFv His scFvConector(+C))

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGKGGSGGKGGKGSQAVVTQEPSLTVSP
GGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGKGGSGGKGGKGSQAVVTQEPSLTVSP
GGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWVFGGGTKLTVLG

Figura 52D

XENP12785 (CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+D))

Single chain Fv (CD3 H1.30 L1.47 scFv His scFvConector(+D))

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGKSGGGKSGGGKSQAVVTQEPSTVSP
GGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWVFVGGGKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGKSGGGKSGGGKSQAVVTQEPSTVSP
GGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWVFVGGGKLTVLGS

XENP12786 (CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+E))

Fv cadena sencilla (CD3 H1.30 L1.47 scFv His scFvConector(+E))

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKGKSGKGKSGKGKSQAVVTQEPSTVSP
GGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWVFVGGGKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKGKSGKGKSGKGKSQAVVTQEPSTVSP
GGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWVFVGGGKLTVLGS

XENP12787 (CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+F))

Fv cadena sencilla (CD3 H1.30 L1.47 scFv His scFvConector(+F))

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGKSGGGKSGGGKSQAVVTQEPSTVSP
GGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWVFVGGGKLTVLGSHHHHHH

Figura 52E

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGKSGGKSGKPGSQAVVTQEPSLTVSP
GGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWWVFGGGTKLTVLGS

XENP12788 (CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+G))

Fv Cadena sencilla (CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+G))

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSP
GGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSP
GGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWWVFGGGTKLTVLGS

XENP12789 (CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+H))

Fv Cadena sencilla (CD3_H1.30_L1.47_scFv_His_scFvConector(+H))

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEAD
YYCALWYSNHWWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEAD
YYCALWYSNHWWVFGGGTKLTVLGS

Figura 52G

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGEGSGGEGSGGEGSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYV
MHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLLTVSSSG

XENP12793 (4G7_L1.199_H1.227_15AA_conector_(-C)_scFv_6X-His)

Fv Cadena sencilla (4G7_L1.199_H1.227_conector 15AA (-C) scFv 6X-His)

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGEGSGGEGSGGEGSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYV
MHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLLTVSSSGHHHHHH

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGEGSGGEGSGGEGSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYV
MHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLLTVSSSG

XENP12794 (4G7_L1.199_H1.227_15AA_conector_(-D)_scFv_6X-His)

Fv Cadena sencilla (4G7_L1.199_H1.227_conector 15AA (-D) scFv 6X-His)

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGGESGGRESGGGESEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYV
MHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLLTVSSSGHHHHHH

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGGESGGRESGGGESEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYV
MHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDVAVYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTLLTVSSSG

Figura 52H

XENP12795 (4G7_L1.199_H1.227_15AA_conector_(-E)_scFv_6X-His)

Fv Cadena sencilla (4G7 L1.199 H1.227 conector 15AA (-E) scFv 6X-His)

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGEGESGEGESGEGESEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVM
HWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGTYYYGTRVFDYWG
QGTLVTVSSSGHHHHHH

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGEGESGEGESGEGESEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYVM
HWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGTYYYGTRVFDYWG
QGTLVTVSSSG

XENP12796 (4G7_L1.199_H1.227_15AA_conector_(-F)_scFv_6X-His)

Fv Cadena sencilla (4G7 L1.199 H1.227 conector 15AA (-F) scFv 6X-His)

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGGGESGEGESGEGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYV
MHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTTLTVSSSGHHHHH

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGGGESGEGESGEGGSEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTFTSYV
MHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGTYYYGTRVFDYW
GQGTTLTVSSSG

XENP12801 (4G7_L1.199_H1.227_15AA_conector_(-G)_scFv_6X-His)

Fv Cadena sencilla (4G7 L1.199 H1.227 conector 15AA (-G) scFv 6X-His)

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGEGESGEGESGEGESEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYTF
TSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTKYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGTYYYGTRVF
DYWGQGTTLTVSSSGHHHHHH

Figura 52I

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKGEGESGEGESGEGESGEGESEVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTF
TSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKSTAYMELSSLRSEDNAVYYCARGTYYYGTRVF
DYWGQGTTLTVSSSG

**XENP12968 (4G7_H1.227_L1.199_Fab-CD3_H1.30_L1.47_scFv_Fc(216)_IgG1_PVA_/S267K_pl_ISO(-
NKV)-pl_ISO(+RR)_L368D/K370S-C220S/S364K/E357Q)**

Cadena pesada 1 (4G7 H1.227 IgG1 pl ISO(-) PVA /S267K/L368D/K370S/S384N/N392K/M397V)

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFSTYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKST
AYMELSSLRSEDNAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGTTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQYTCNVDPKPSNTKVDKKVEPKSCDKTHCPCPAPP
VAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVQFNWYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQD
WLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCDVSGFYPDSIAVEWESNGQPENN
YKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

Cadena pesada 2 (CD3 H1.30 L1.47 scFv Fc(216) IgG1 pl ISO(+RR) C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q)

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTTLTVSSGGGGSGGGSGGGGSQAVVTQEPSTVS
PGGTVTLTGSSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCA
LWYSNHWVFSGGKTLTVLERKSSDKTHCPRCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFK
WYVDGVEVHNATKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REQMTKNQVQLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEA
LHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (4G7 L1.199)

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Figura 52J

XENP13121 (4G7_H1.227_L1.199_Fab-CD3_H1.30_L1.47_scFv_Fc(216)_IgG1_PVA_/S267K_pl(-)_Isostérica_A_L368D/K370S-IgG1_C220S/S364K/E357Q)

Cadena pesada 1 (4G7_H1.227_IgG1_pl(-)_Isostérica_A_PVA_/S267K/L368D/K370S)

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKST
AYMELSSLRSEDAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYK
TTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2 (CD3_H1.30_L1.47_scFv_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q)

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNHWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRSEDAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGSAVVTVQEPSLTVS
PGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCA
LWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFN
WYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPS
REQMTKNQVTKLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMIIIEA
LHNHYTQKSLSLSP

Cadena ligera (4G7_L1.199)

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDSSTLSSTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Figura 52K

XENP13122 (4G7_H1.227_L1.199_Fab-
CD3_H1.30_L1.47_scFv(GKGG5)3_Fc(216)_IgG1_PVA_/S267K_pl(-)_Isostérica_A_L368D/K370S-
IgG1_C220S/S364K/E357Q)

Cadena pesada 1 (4G7 H1.227 IgG1 pl(-) Isostérica A PVA /S267K/L368D/K370S)

SEQ ID NO:X
EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKST
AYMELSSLRSEDAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSQGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYK
TPPVLDSDGGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2 (CD3 H1.30 L1.47 scFv(GKGG5)3 Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q)

SEQ ID NO:X
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGGTLVTVSSGKGGSGKGGSGKGGSQAVVTQEPLTVSP
GGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYNSHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
QMTKNQVQLTCLVKGFPYSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (4G7 L1.199)

SEQ ID NO:X
DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGE

Figura 52L

**XENP13123 (4G7_H1.227_L1.199_Fab-
CD3_H1.30_L1.47_scFv(GKPGS)3_Fc(216)_IgG1_PVA_/S267K_pl(-)_ Isostérica_A_L368D/K370S-
IgG1_C220S/S364K/E357Q)**

Cadena pesada 1 (4G7 H1.227 IgG1 pl(-) Isostérica A PVA /S267K/L368D/K370S)

SEQ ID NO:X
EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKST
AYMELSSLRSEDAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDQGPPENNYK
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2 (CD3 H1.30 L1.47 scFv(GKPGS)3 Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q)

SEQ ID NO:X
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRSEDVAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGTLLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPSLTVSP
GGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
QMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (4G7 L1.199)

SEQ ID NO:X
DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVLPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Figura 52M

XENP13124 (4G7_H1.227_L1.199_Fab-
CD3_H1.30_L1.47_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_PVA_/S267K_pl(-)_Isostérica_A_L368D/K370S-
IgG1_C220S/S364K/E357Q)

Cadena pesada 1 (4G7_H1.227_IgG1_pl(-)_Isostérica_A_PVA_/S267K/L368D/K370S)

SEQ ID NO:X
EVQLVESGGGLVQPGGSLKLSCAASGYTFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKST
AYMELSSLRSEDAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGTLTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2 (CD3_H1.30_L1.47_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/S364K/E357Q)

SEQ ID NO:X
EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRSEDAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGGTLTVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEV
KFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKISKAKGQPREPQVYTL
PPSREQMTKNQVLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVM
HEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (4G7_L1.199)

SEQ ID NO:X
DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVDPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Figura 52N

XENP13125 (4G7_H1.227_L1.199_Fab-
CD3_H1.30_L1.47_scFv(GKGKS)3_Fc(216)_IgG1_PVA_/S267K_pl(-)_Isostérica_A_L368D/K370S-
IgG1_C220S/S364K/E357Q)

Cadena pesada 1 (4G7 H1.227 IgG1 pl(-) Isostérica A PVA /S267K/L368D/K370S)

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSCAASGYFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKST
AYMELSSLRSEDAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGQGLTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHCTCPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEEYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTSKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSFGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYK
TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2 (CD3 H1.30 L1.47 scFv(GKGKS)3 Fc(216) IgG1 C220S/PVA /S267K/S364K/E357Q)

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFTSYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGKGKSGKSGKSGKSAVVTQEPSLTVSP
GGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPKGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEADYYCAL
WYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKHTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNW
YVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSRE
QMTKNQVKLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (4G7 L1.199)

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQKQPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYIPITFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKDYSLSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

Figura 52O

XENP13126 (4G7_H1.227_L1.199_Fab-CD3_H1.30_L1.47_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_pl(-)_ Isostérica_A_L368D/K370S-IgG1_C220S/PVA_/S267K/E269Q/S364K/E357Q)

Cadena pesada 1 (4G7_H1.227_IgG1_pl(-)_ Isostérica_A_PVA_/S267K/L368D/K370S)

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVKPGGSLKLSAASGYFTSYVMHWVRQAPGGGLEWIGYINPYNDGTYNEKFKGRVTISSDKSKST
AYMELSSLRSEDAVYYCARGTYYYGTRVFDYWGGTLVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPV
TVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSDTKVDKKVEPKSCDKTHTCPPCPAPPV
AGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEYNSTYRVVSVLTVLHQDW
LNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCDVSGFYPSDIAVEWESDGGQPENNYK
TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWEQGDVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena pesada 2

(CD3_H1.30_L1.47_scFv(GKPGS)4_Fc(216)_IgG1_C220S/PVA_/S267K/E269Q/S364K/E357Q)

SEQ ID NO:X

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSAAAGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIRSKYNNYATYYADSVKGRFTISRDDSK
NTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQTLTVVSSGKPGSGKPGSGKPGSGKPGSQAVVTQEPS
LTVSPGGTVTLTCSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLGGKAALTISGAQPEDEAD
YYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLEPKSSDKTHTCPPCPAPPVAGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVKHQDPE
VKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTL
LPPSREQMTKNQVKLTCLVKGFPYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSV
MHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera (4G7_L1.199)

SEQ ID NO:X

DIVMTQSPATLSLSPGERATISCRSSKSLQNVNGNTYLYWFQQKPGQSPKLLIYRASNLNSGVPDRFSGSGSGTEFTLTIS
SLEPEDFAVYYCMQHLEYPITFGGGTKLEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQS
GNSQESVTEQDSKSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

Figura 53

AMINOÁCIDO	pI
Alanina Ala A	6.00
Arginina Arg R	11.15
Asparagina Asn N	5.41
Ácido aspártico Asp D	2.77
Cisteína Cys C	5.02
Ácido glutámico Glu E	3.22
Glutamina Gln Q	5.65
Glicina Gly G	5.97
Histidina His H	7.47
Isoleucina Ile I	5.94
Leucina Leu L	5.98
Lisina Lys K	9.59
Metionina Met M	5.74
Fenilalanina Phe F	5.48
Prolina Pro P	6.30
Serina Ser S	5.68
Treonina Thr T	5.64
Triptófano Trp W	5.89
Tirosina Tyr Y	5.66
Valina Val V	5.96

Figura 54A

Variante	Núm. de sub.	pl / pl	pl / WT	WT/ WT	delta pl promedio
G137E/N203D/K274Q/R355Q/K392N/Q419E/K447_	7	6.43	7.14	8.02	-0.79
G137E/N203D/K274Q/R355Q/K392N/Q419E	6	6.58	7.30	8.02	-0.72
G137E/N203D/K274Q/R355Q/K392N/K447_	6	6.58	7.30	8.02	-0.72
G137E/N203D/K274Q/R355Q/Q419E/K447_	6	6.58	7.30	8.02	-0.72
G137E/N203D/K274Q/K392N/Q419E/K447_	6	6.58	7.30	8.02	-0.72
G137E/N203D/R355Q/K392N/Q419E/K447_	6	6.58	7.30	8.02	-0.72
G137E/K274Q/R355Q/K392N/Q419E/K447_	6	6.58	7.30	8.02	-0.72
N203D/K274Q/R355Q/K392N/Q419E/K447_	6	6.58	7.30	8.02	-0.72
G137E/N203D/K274Q/R355Q/K392N	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/N203D/K274Q/R355Q/Q419E	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/N203D/K274Q/R355Q/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/N203D/K274Q/K392N/Q419E	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/N203D/K274Q/K392N/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/N203D/K274Q/Q419E/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/N203D/R355Q/K392N/Q419E	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/N203D/R355Q/K392N/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/N203D/R355Q/Q419E/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/N203D/K392N/Q419E/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/K274Q/R355Q/K392N/Q419E	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/K274Q/R355Q/K392N/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/K274Q/R355Q/Q419E/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/K274Q/K392N/Q419E/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/R355Q/K392N/Q419E/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
N203D/K274Q/R355Q/K392N/Q419E	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
N203D/K274Q/R355Q/K392N/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
N203D/K274Q/R355Q/Q419E/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
N203D/K274Q/K392N/Q419E/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
N203D/R355Q/K392N/Q419E/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
K274Q/R355Q/K392N/Q419E/K447_	5	6.76	7.46	8.02	-0.63
G137E/N203D/K274Q/R355Q	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/N203D/K274Q/K392N	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/N203D/K274Q/Q419E	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/N203D/K274Q/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/N203D/R355Q/K392N	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/N203D/R355Q/Q419E	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/N203D/R355Q/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/N203D/K392N/Q419E	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/N203D/K392N/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/N203D/Q419E/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/K274Q/R355Q/K392N	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/K274Q/R355Q/Q419E	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/K274Q/R355Q/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/K274Q/K392N/Q419E	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/K274Q/K392N/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/K274Q/Q419E/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/R355Q/K392N/Q419E	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/R355Q/K392N/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/R355Q/Q419E/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/K392N/Q419E/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
N203D/K274Q/R355Q/K392N	4	7.00	7.61	8.02	-0.51

Figura 54B

Variante	Núm. de sub.	pl / pl	pl / WT	WT/ WT	delta pl promedio
N203D/K274Q/R355Q/Q419E	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
N203D/K274Q/R355Q/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
N203D/K274Q/K392N/Q419E	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
N203D/K274Q/K392N/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
N203D/K274Q/Q419E/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
N203D/R355Q/K392N/Q419E	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
N203D/R355Q/K392N/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
N203D/R355Q/Q419E/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
N203D/K392N/Q419E/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
K274Q/R355Q/K392N/Q419E	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
K274Q/R355Q/K392N/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
K274Q/R355Q/Q419E/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
K274Q/K392N/Q419E/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
R355Q/K392N/Q419E/K447_	4	7.00	7.61	8.02	-0.51
G137E/N203D/K274Q	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/N203D/R355Q	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/N203D/K392N	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/N203D/Q419E	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/N203D/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/K274Q/R355Q	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/K274Q/K392N	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/K274Q/Q419E	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/K274Q/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/R355Q/K392N	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/R355Q/Q419E	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/R355Q/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/K392N/Q419E	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/K392N/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/Q419E/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
N203D/K274Q/R355Q	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
N203D/K274Q/K392N	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
N203D/K274Q/Q419E	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
N203D/K274Q/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
N203D/R355Q/K392N	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
N203D/R355Q/Q419E	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
N203D/R355Q/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
N203D/K392N/Q419E	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
N203D/K392N/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
N203D/Q419E/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
K274Q/R355Q/K392N	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
K274Q/R355Q/Q419E	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
K274Q/R355Q/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
K274Q/K392N/Q419E	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
K274Q/K392N/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
K274Q/Q419E/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
R355Q/K392N/Q419E	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
R355Q/K392N/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
R355Q/Q419E/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
K392N/Q419E/K447_	3	7.30	7.74	8.02	-0.36
G137E/N203D	2	7.61	7.85	8.02	-0.21

Figura 54C

Variante	Núm. de sub.	pl / pl	pl / WT	WT/ WT	delta pl promedio
G137E/K274Q	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
G137E/R355Q	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
G137E/K392N	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
G137E/Q419E	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
G137E/K447_	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
N203D/K274Q	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
N203D/R355Q	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
N203D/K392N	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
N203D/Q419E	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
N203D/K447_	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
K274Q/R355Q	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
K274Q/K392N	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
K274Q/Q419E	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
K274Q/K447_	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
R355Q/K392N	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
R355Q/Q419E	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
R355Q/K447_	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
K392N/Q419E	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
K392N/K447_	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
Q419E/K447_	2	7.61	7.85	8.02	-0.21
G137E	1	7.85	7.94	8.02	-0.09
N203D	1	7.85	7.94	8.02	-0.09
K274Q	1	7.85	7.94	8.02	-0.09
R355Q	1	7.85	7.94	8.02	-0.09
K392N	1	7.85	7.94	8.02	-0.09
Q419E	1	7.85	7.94	8.02	-0.09
K447_	1	7.85	7.94	8.02	-0.09

Figura 55

Variante	Núm. de sub.	/ pl	pl / WT	WT/ WT	delta pl promedio
Q196K/P217R/P228R/N276K/H435R	5	8.53	8.32	8.02	0.25
Q196K/P217R/P228R/N276K	4	8.45	8.27	8.02	0.22
Q196K/P217R/P228R/H435R	4	8.46	8.28	8.02	0.22
Q196K/P217R/N276K/H435R	4	8.45	8.27	8.02	0.22
Q196K/P228R/N276K/H435R	4	8.45	8.27	8.02	0.22
P217R/P228R/N276K/H435R	4	8.46	8.28	8.02	0.22
Q196K/P217R/P228R	3	8.37	8.22	8.02	0.17
Q196K/P217R/N276K	3	8.37	8.22	8.02	0.17
Q196K/P217R/H435R	3	8.37	8.22	8.02	0.17
Q196K/P228R/N276K	3	8.37	8.22	8.02	0.17
Q196K/P228R/H435R	3	8.37	8.22	8.02	0.17
Q196K/N276K/H435R	3	8.37	8.22	8.02	0.17
P217R/P228R/N276K	3	8.37	8.22	8.02	0.17
P217R/P228R/H435R	3	8.37	8.22	8.02	0.18
P217R/N276K/H435R	3	8.37	8.22	8.02	0.17
P228R/N276K/H435R	3	8.37	8.22	8.02	0.17
Q196K/P217R	2	8.27	8.16	8.02	0.13
Q196K/P228R	2	8.27	8.16	8.02	0.13
Q196K/N276K	2	8.27	8.16	8.02	0.13
Q196K/H435R	2	8.27	8.16	8.02	0.13
P217R/P228R	2	8.28	8.16	8.02	0.13
P217R/N276K	2	8.27	8.16	8.02	0.13
P217R/H435R	2	8.28	8.16	8.02	0.13
P228R/N276K	2	8.27	8.16	8.02	0.13
P228R/H435R	2	8.28	8.16	8.02	0.13
N276K/H435R	2	8.27	8.16	8.02	0.13
Q196K	1	8.16	8.10	8.02	0.07
P217R	1	8.16	8.10	8.02	0.07
P228R	1	8.16	8.10	8.02	0.07
N276K	1	8.16	8.10	8.02	0.07
H435R	1	8.16	8.10	8.02	0.07

Figura 56

Indice EU	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117	118	119	120	121	122	123	124	125
C _K	R	T	V	A	A	P	S	V	F	I	F	P	P	S	D	E	Q	L
C _A	Q	P	K	A	A	P	S	V	T	L	F	P	P	S	S	E	E	L
Indice EU	126	127	128	129	130	131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143
C _K	K	S	G	T	A	S	V	V	C	L	L	N	N	F	Y	P	R	E
C _A	Q	A	N	K	A	T	L	V	C	L	I	S	D	F	Y	P	G	A
Indice EU	144	145	146	147	148	149	150	151	152	153		154	155	156	157	158	159	160
C _K	A	K	V	Q	W	K	V	D	N	A		L	Q	S	G	N	S	Q
C _A	V	T	V	A	W	K	A	D	S	S	P	V	K	A	G			V
Indice EU	161	162	163	164	165	166	167	168	169	170	171	172	173	174	175	176	177	178
C _K	E	S	V	T	E	Q	D	S	K	D	S	T	Y	S	L	S	S	T
C _A	E	T	T	T	P	S	K	Q	S	N	N	K	Y	A	A	S	S	Y
Indice EU	179	180	181	182	183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195	196
C _K	L	T	L	S	K	A	D	Y	E	K	H	K	V	Y	A	C	E	V
C _A	L	S	L	T	P	E	Q	W	K	S	H	R	S	Y	S	C	Q	V
Indice EU	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214
C _K	T	H	Q	G	L	S	S	P	V	T	K	S	F	N	R	G	E	C
C _A	T	H	E	G			S	T	V	E	K	T	V	A	P	T	E	C

FIGURA 57A

XENP12912 H1.79_L1.48

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKCLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGCGTKLTVLGSHHHHHH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKCLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGCGTKLTVL

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKCLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLTVTVSS

QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGCGTKLTVL

XENP13701 H1.80_L1.49

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGCGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKCPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGCGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKCPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGCGLTVTVSS

QAVVTQEPSTLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKCPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

FIGURA 57B

XENP13702 H1.81_L1.50

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSCVSWFAYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLICGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSCVSWFAYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLICGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSCVSWFAYWGQGLVTVTVSS

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLICGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

XENP13703 H1.81_L1.51

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSCVSWFAYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGCTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSCVSWFAYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGCTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSCVSWFAYWGQGLVTVTVSS

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQQKPGKSPRGLIGCTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

FIGURA 57C

XENP13704 H1.82_L1.51

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGCSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGCTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGCSYVSWFAYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGCTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGCSYVSWFAYWGQGLVTVVSS

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGCTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

XENP13705 H1.83_L1.52

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFCYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRCLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFCYWGQGLVTVVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRCLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFCYWGQGLVTVVSS

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRCLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

FIGURA 57D

XENP13706 H1.84_L1.53

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRCAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQCKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRCAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQCKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRCAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVTVSS

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQCKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

XENP13707 H1.85_L1.54

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTACYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQCKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVLGSHHHHHH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTACYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQCKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTACYCVRHGNFGDSYVSWFAYWGQGLVTVTVSS

QAVVTQEPSLTVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQCKPGKSPRGLIGGTNKRAPGVPARFSGSLLG
GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWFVGGGTKLTVL

FIGURA 57E

XENP13708 H1.86_L1.55

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYCSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
 QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNCRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYCSWFAYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
 QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNCRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYCSWFAYWGQGLTVTVSS

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNCRAPGVPARFSGSLLG
 GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

XENP13709 H1.83_L1.56

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFCYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
 QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRCPGVPARFSGSLLG
 GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVLGSHHHHHH

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFCYWGQGLTVTVSSGGGGSGGGSGGGGS
 QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRCPGVPARFSGSLLG
 GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTTFSTYAMNWVRQAPGKGLEWVGRIIRSKYNNYATYYADSVKGRF
 TISRDDSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCVRHGNFGDSYVSWFCYWGQGLTVTVSS

QAVVTQEPSTLVSPGGTVTLTCGSSTGAVTTSNYANWVQKPGKSPRGLIGGTNKRCPGVPARFSGSLLG
 GKAALTISGAQPEDEADYYCALWYSNHWVFGGGTKLTVL

XENP	VH ID	VL ID	Rendimiento (mg/mL)	T _f (°C)
12912	H1.79	L1.48	2.70	71.0