

COMPUESTO DIRIGIDO A IL-23A Y TNF-ALFA Y SUS USOS

SOLICITUD RELACIONADA

5 La presente solicitud reivindica el beneficio de la fecha de
presentación conforme a 35 U.S.C. §119 de la solicitud
provisional de Estados Unidos número de serie 62/045,498,
presentada el 3 de septiembre de 2014, y titulada «Compuesto
dirigido a IL-23A y TNF-ALFA y sus usos», cuyo contenido total
10 se incorpora a la presente mediante referencia.

ANTECEDENTES DE LA INVENCION

15 La inflamación implica una respuesta inmunitaria innata y
adaptable que es necesaria para combatir la infección. Sin
embargo, cuando la inflamación se vuelve una enfermedad
autoinflamatoria o autoinmunitaria desenfrenada, puede
desarrollarse una enfermedad neurodegenerativa e incluso
20 cáncer.

Está establecido que la inhibición de la actividad de las
citocinas proinflamatorias tales como IL1, TNF-alfa, IL6, IL12,
IL17, IL18 o IL23 reduce la inflamación y reprime las vías

específicas que activan las células inmunitarias.

La interleucina 23 (IL23) es una citocina heterodimérica que consiste en dos subunidades, p40 y p19. También se hace
5 referencia a la subunidad p19 como IL-23A. Mientras que la subunidad p19 es única de IL23, la subunidad p40 se comparte con la citocina IL12. IL23 está surgiendo como un regulador clave de las células linfoides innatas T (ILC) Th17, $\gamma\delta$ patogénicas que provocan la producción de IL17, IL22 y otras
10 citocinas que provocan daño e inflamación tisular local. IL23 promueve la regulación por incremento de la metaloproteinasa de la matriz MMP9, aumenta la angiogénesis, reduce la infiltración de linfocitos T CD8+ y ha estado implicada en el desarrollo de tumores cancerosos. Además, junto con IL6 y TGF-
15 beta1, IL23 estimula la diferenciación de los linfocitos T CD4+ sin tratamiento en linfocitos Th17. A su vez, los linfocitos Th17 producen IL17, una citocina proinflamatoria que potencia el cebado de linfocitos T y estimula la producción de citocinas proinflamatorias tales como IL1, IL6, TNF-alfa, NOS-2, y
20 también induce la expresión de quimiocinas que provocan inflamación y la patogénesis de la enfermedad. IL23 ejerce sus efectos mediante un receptor de la superficie celular compuesto de la subunidad IL12 β 1 del receptor de IL12 emparejado con una única subunidad IL23R. La expresión de IL23R se restringe a

poblaciones específicas de células inmunitarias y se encuentra principalmente en subconjuntos de linfocitos T (TCR+ $\alpha\beta$ y $\gamma\delta$) y células NK.

5 En ratones, la ablación genética del gen IL23p19 provoca la pérdida selectiva de la función de IL23 acompañada por respuestas inmunitarias dependientes de T seriamente comprometidas, que incluyen una producción reducida de inmunoglobulinas específicas del antígeno y respuestas de
10 hipersensibilidad de tipo retardadas disminuidas (Ghilardi N, et ál. (2004) *J. Immunol.* 172(5): 2827-33). Los ratones inactivados con deficiencia de IL23p40 o IL23p19, o en cualquiera de las subunidades del receptor de IL23 (IL23R e IL12-betal), desarrollan síntomas menos graves en los modelos
15 animales de esclerosis múltiple, artritis y enfermedad inflamatoria intestinal. Se han obtenido resultados similares mediante el uso de un anticuerpo específico para IL23p19 en EAE y un modelo de colitis mediado por linfocitos T confirma además la función de IL23 en estas configuraciones de
20 enfermedad (Chen Y. et ál. (2006) *J. Clin. Invest.* 116(5): 1317-26; Elson CO. et ál. (2007) *Gastroenterology* 132(7): 2359-70). Esto resalta la importancia de IL23 en la inflamación crónica (Langowski et ál. (2006) *Nature* 442 (7101): 461-5; Kikly K, et ál. (2006) *Curr. Opin. Immunol.* 18 (6): 670-5). Además, la

producción elevada de IL23 ha estado implicada como un factor principal en la artritis inflamatoria y en las enfermedades autoinmunitarias inflamatorias (Adamopoulos et ál. (2011) *J. Immunol.* 187: 593-594; y Langris et ál. (2005) *J. Exp. Med.* 201:233-240). Se ha publicado una conexión entre IL23, su citocina corriente abajo IL22 y la formación ósea en un sistema de modelos de ratón en el cual se sobreexpresa IL23 (Sherlock et ál. (2012) *Nat. Med.* 18: 1069-76).

La citocina TNF- α hemotrimérica es expresada principalmente por macrófagos, linfocitos, células endoteliales y fibroblastos y se une a dos receptores diferentes: TNFR1, expresado en casi todos los tipos de células, y TNFR2, con una expresión más limitada en células inmunitarias (linfocitos T CD4+, células NK). De manera similar a muchos miembros de la superfamilia de TNF, TNF- α existe como formas solubles y de la membrana, en la que la forma soluble surge de la escisión de la forma de la membrana por parte de la metaloproteinasa ADAM17 (TACE, enzima de conversión de TNF α). Tanto la forma soluble como la que se une a la membrana de la citocina son biológicamente activas.

El factor de necrosis tumoral (TNF-alfa/TNF- α) es una citocina proinflamatoria que estimula la fase aguda de la inflamación.

El factor de necrosis tumoral aumenta la permeabilidad vascular a través de la inducción de IL8, y capta de ese modo macrófagos y neutrófilos a un sitio de infección. Una vez que se encuentran presentes, los macrófagos continúan produciendo TNF-alfa, lo que mantiene y amplifica la respuesta inflamatoria. La función principal del TNF-alfa es la regulación de las células inmunitarias; sin embargo, el TNF-alfa también está implicado en la regulación de un amplio espectro de procesos biológicos que incluyen la proliferación celular, diferenciación, apoptosis, metabolismo de lípidos y coagulación. El TNF-alfa es capaz de inducir la inflamación, inducir la muerte celular apoptótica, inhibir la tumorigenicidad e inhibir la replicación viral.

La desregulación de la producción de TNF-alfa ha estado implicada en una variedad de enfermedades humanas, que incluyen enfermedades autoinmunitarias (por ejemplo, artritis reumatoide (RA), enfermedad de Crohn, esclerosis múltiple), enfermedad intestinal inflamatoria (IBD, por sus siglas en inglés), colitis ulcerosa, psoriasis, coque tóxico, enfermedad de injerto contra huésped, resistencia a la insulina, enfermedad de Alzheimer, cáncer y depresión mayor (Swardfager W, et ál. (2010) *Biol Psychiatry* 68 (10): 930-941; (Locksley RM, et ál. (2001) *Cell* 104 (4): 487-501; Dowlati et ál., (2010)

Biol Psychiatry 67 (5): 446-457; Brynskov J. et ál. (2002) *Gut* 51 (1): 37-43).

Se han utilizado anticuerpos como terapias biológicas para la
5 inhibición de TNF-alfa e IL23 a los efectos de tratar una
variedad de enfermedades inflamatorias. Infliximab (Centocor,
Malvem, Pa.) descrito en las patentes estadounidenses n.º
6,277,969, 6,284,471 y 6,790,444, es un anticuerpo de IgG
monoclonal quimérico anti-TNF-alfa que presenta las regiones
10 variable de ratón y constante de IgG4 humana y se utiliza
clínicamente para tratar la artritis reumatoide, artritis
psoriásica, espondilitis anquilosante, enfermedad de Crohn,
colitis ulcerosa y psoriasis en placas. El anticuerpo
monoclonal adalimumab (clon D2E7; Abbott Laboratories, Abbott
15 Park, Illinois) descrito en la patente estadounidense n.º
6,090,382 es una terapia anti-TNF-alfa utilizada clínicamente
para tratar la artritis reumatoide, enfermedad de Crohn,
psoriasis, artritis psoriásica, espondilitis anquilosante y
artritis idiopática juvenil. Golimumab es un bloqueador de TNF-
20 alfa utilizado para tratar la artritis reumatoide, artritis
psoriásica, espondilitis anquilosante y colitis ulcerosa.
Además, el anticuerpo monoclonal humano ustekinumab (Centocor,
Inc, Malvem, Pa.), descrito en la patente estadounidense n.º
6,902,734 y la patente estadounidense n.º 7,166,285, que se

dirige contra la interleucina 12 y la interleucina 23 (específicamente la subunidad p40), se utiliza clínicamente para tratar la psoriasis en placas grave, y además se encuentra en investigación para el tratamiento de la artritis psoriásica, esclerosis múltiple y sarcoidosis. Sin embargo, se ha indicado que las terapias anti-TNF- α presentan efectos secundarios [ver, por ejemplo: Keane J et ál. (2001)]. La tuberculosis se asocia a infliximab, un agente de neutralización del factor de necrosis tumoral α . *N Engl J Med* 345 (15): 1098-1104; Scheinfeld N. (2005) Adalimumab: a review of side effects. *Expert Opin Drug Saf.* 4(4):637-41; Chovel-Sella A et ál. (2012) Clinical efficacy and adverse effects of golimumab in the treatment of rheumatoid arthritis. *Isr Med Assoc J.* 14(6):390-4]. La identificación de tratamientos más eficaces debería permitir la administración de dosificaciones reducidas, así como costos más bajos asociados al tratamiento.

Aún existe una necesidad de composiciones con una mayor eficacia para tratar y prevenir enfermedades autoinmunitarias o inflamatorias.

COMPENDIO DE LA INVENCION

En la presente se proporcionan compuestos específicos para TNF-

alfa e IL23, composiciones que comprenden dichos compuestos, así como métodos para utilizarlos y producirlos.

Los aspectos de la descripción se refieren a un compuesto que
5 comprende un primer polipéptido y un segundo polipéptido en el
que:

(A) dicho primer polipéptido comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de una primera
inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína
10 diana;

(ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda
inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína
diana; y

(iii) una región bisagra, una región constante de cadena
15 pesada 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3);
y

(B) dicho segundo polipéptido comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda
inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína
20 diana;

(ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera
inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína
diana;

en el que:

- (i) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína diana;
- (ii) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha segunda proteína diana;
- 5 (iii) dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y un ácido glutámico en la posición 256, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat para un anticuerpo convencional; y
- 10 (iv) dicha primera proteína diana es TNF-alfa y dicha segunda proteína diana es IL-23A o dicha primera proteína diana es IL-23A y dicha segunda proteína diana es TNF-alfa, en el que:
- (i) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:2, dicho VH1
15 comprende la SEQ ID NO:1, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:8 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:7; o
- (ii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4 o 6, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3 o 5, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:8 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:7; o
- 20 (iii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:8, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:7, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:2 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:1; o
- (iv) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:8, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:7, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4 o

6 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3 o 5.

En algunas modalidades, en (ii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:8 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:7.

En algunas modalidades, en (ii) dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:6, dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:5, dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:8 y dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:7. En algunas modalidades, en (iv) dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:4, dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:3, dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:8 y dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:7. En algunas modalidades, en (iv) dicho VL2 comprende la SEQ ID NO:6, dicho VH2 comprende la SEQ ID NO:5, dicho VL1 comprende la SEQ ID NO:8 y dicho VH1 comprende la SEQ ID NO:7.

En algunas modalidades, dicho primer polipéptido comprende además un primer enlazador entre dicho VL1 y dicho VH2 y dicho segundo polipéptido comprende además un segundo enlazador entre dicho VL2 y dicho VH1. En algunas modalidades, dicho primer enlazador o dicho segundo enlazador comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGG (SEQ ID NO:9). En algunas modalidades, dicho primer enlazador y dicho segundo enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos GGGSGGG (SEQ ID NO:9).

En algunas modalidades, dicho primer polipéptido comprende además un dominio de región constante de cadena pesada 1 (CH1) y dicho segundo polipéptido comprende además un dominio de
5 región constante de cadena ligera (CL), en el que dicha CL y dicha CH1 se asocian entre sí mediante un enlace disulfuro para formar un dominio C1.

En algunas modalidades, dicho primer polipéptido comprende
10 además un tercer enlazador entre dicho VH2 y dicha CH1 y dicho segundo polipéptido comprende además un cuarto enlazador entre dicho VH1 y dicha CL. En algunas modalidades, dicho tercer enlazador comprende la secuencia de aminoácidos FNRGES (SEQ ID NO:11). En algunas modalidades, dicho cuarto enlazador
15 comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSS (SEQ ID NO: 12). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador comprende la secuencia de aminoácidos FNRGES (SEQ ID NO:11) y dicho cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos VEPKSS (SEQ ID NO: 12). En algunas modalidades, el tercer enlazador o dicho
20 cuarto enlazador comprende la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO: 10). En algunas modalidades, dicho tercer enlazador y dicho cuarto enlazador comprenden la secuencia de aminoácidos LGGGSG (SEQ ID NO: 10).

En algunas modalidades, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) comprende una alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, numeradas de acuerdo con el índice EU de Kabat para un anticuerpo convencional.

5

En algunas modalidades, la secuencia de aminoácidos de dicha región bisagra, dicha región constante de cadena pesada 2 (CH2) o dicha región constante de cadena pesada 3 (CH3) se obtiene a partir de IgG1 o IgG4. En algunas modalidades, dicha región
10 bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:40).

En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, en el
15 que dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro. En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, en el que dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un
20 enlace disulfuro y en el que cada uno de dicho primer polipéptido se asocia a uno de dicho segundo polipéptido mediante al menos un enlace disulfuro.

En algunas modalidades,

- (i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14;
- (ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16;
- (iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18;
- (iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20;
- (v) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22;
- (vi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24;
- (vii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26;
- (viii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28;

- (ix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30;
- (x) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32;
- (xi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o
- (xii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36.

En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, en el que dichos dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro.

En algunas modalidades, dicho compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido y en el que la CH2 y la CH3, y la CH1 si se encuentra presente, de uno del primer polipéptido se asocia a la CH2 y la CH3, y la CH1 si se encuentra presente, del otro del primer polipéptido para formar una molécula tetraivalente. En algunas modalidades, dicho

compuesto comprende dos de dicho primer polipéptido y dos de dicho segundo polipéptido, en el que cada uno de dicho primer polipéptido comprende una CH1, una CH2 y una CH3 y cada uno de dicho segundo polipéptido comprende una CL, y en el que la CH2 y la CH3 de uno del primer polipéptido se asocia a la CH2 y la CH3 del otro del primer polipéptido y la CH1 de cada primer polipéptido se asocia a la CL de dicho segundo polipéptido para formar una molécula tetravalente.

Otros aspectos de la descripción se refieren a un primer compuesto que compite con un segundo compuesto para unirse a IL-23A y a TNF-alfa, en el que dicho primer compuesto comprende un tercer polipéptido y un cuarto polipéptido, en el que:

(A) dicho tercer polipéptido comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína diana;

(ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína diana; y

(iii) una región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2) y una región constante de cadena pesada 3 (CH3); y

(B) dicho cuarto polipéptido comprende:

(i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico para dicha segunda proteína diana;

(ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico para dicha primera proteína diana;

y en el que

(i) dichos VL1 y VH1 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha primera proteína diana;

(ii) dichos VL2 y VH2 se asocian para formar un sitio de unión que se une a dicha segunda proteína diana; y

(iii) dicha primera proteína diana es TNF-alfa y dicha segunda proteína diana es IL-23A o dicha primera proteína diana es IL-23A y dicha segunda proteína diana TNF-alfa,

y en el que dicho segundo compuesto comprende un primer polipéptido y un segundo polipéptido, en el que:

(i) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14;

(ii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16;

(iii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17 y dicho segundo polipéptido

comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18;

(iv) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20;

5 (v) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22;

(vi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y dicho segundo polipéptido
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24;

(vii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26;

(viii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y dicho segundo polipéptido
15 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28;

(ix) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30;

20 (x) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32;

(xi) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y dicho segundo polipéptido

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

(xii) dicho primer polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y dicho segundo polipéptido comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36.

5

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto descrito anteriormente.

10 Otros aspectos de la descripción se refieren a un método para tratar una enfermedad autoinmuntaria o inflamatoria que comprende administrar un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto descrito anteriormente, o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto a un sujeto.

15

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto descrito anteriormente, para su uso en la medicina. En algunas modalidades, dicho uso es el tratamiento de una enfermedad
20 autoinmuntaria o inflamatoria.

Otros aspectos de la descripción se refieren a una composición farmacéutica que comprende un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto descrito anteriormente, para

su uso en la medicina. En algunas modalidades, dicho uso es el tratamiento de una enfermedad autoinmuntaria o inflamatoria.

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a un uso de
5 un compuesto descrito en la presente, tal como un compuesto descrito anteriormente, en la fabricación de un medicamento para su uso en la medicina. En algunas modalidades, dicho uso es el tratamiento de una enfermedad autoinmuntaria o inflamatoria.

10

Otros aspectos de la descripción se refieren a un uso de una composición farmacéutica descrita en la presente, tal como una composición farmacéutica descrita anteriormente, en la fabricación de un medicamento para su uso en la medicina. En
15 algunas modalidades, dicho uso es el tratamiento de una enfermedad autoinmuntaria o inflamatoria.

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a un ácido nucleico que comprende una secuencia de nucleótidos que
20 codifica un polipéptido descrito en la presente, tal como un polipéptido descrito anteriormente. Otros aspectos de la descripción se refieren a un vector que comprende dichos ácidos nucleicos. En algunas modalidades, el vector comprende un promotor enlazado de forma operativa a dicho ácido nucleico.

Otros aspectos de la invención se refieren a una célula que comprende dichos ácido nucleico o dicho vector.

Otros aspectos de la descripción se refieren a un método para
5 producir un compuesto o polipéptido tal como se describe en la presente, tal como un polipéptido descrito anteriormente, que comprende obtener una célula descrita en la presente, tal como una célula descrita anteriormente, y expresar un ácido nucleico tal como se describe en la presente en dicha célula. En algunas
10 modalidades, el método comprende además aislar y purificar dicho polipéptido o compuesto.

Los detalles de una o más modalidades de la descripción se establecen en la descripción a continuación. Otras
15 características o ventajas de la presente descripción resultarán evidentes a partir de las siguientes figuras y la descripción detallada de diversas modalidades y también a partir de las reivindicaciones adjuntas.

20 BREVE DESCRIPCIÓN DE LAS FIGURAS

Las siguientes figuras forman parte de la presente memoria descriptiva y están incluidas para mostrar adicionalmente determinados aspectos de la presente descripción, que pueden

entenderse mejor mediante la referencia a una o más de estas figuras en combinación con la descripción detallada de las modalidades específicas presentadas en la presente.

5 La FIGURA 1A es un diagrama de un compuesto ilustrativo específico para TNF-alfa e IL23A. La primera cadena de polipéptidos contiene los dominios de CH3, CH2, VH₂ (VH_{II}) y VL₁ (VL_I). La segunda cadena de polipéptidos contiene los dominios de VH₁ (VH_I) y VL₂ (VL_{II}). VL₁ y VH₁ son específicos para una
10 primera proteína diana (ya sea TNF-alfa o IL23A) y VL₂ y VH₂ son específicos para una segunda proteína diana (ya sea IL23A o TNF-alfa). El panel superior muestra cada cadena de polipéptidos por separado. El panel inferior muestra un compuesto tetravalente formado a través de la asociación de
15 los dominios de CH2 y CH3 de un primer polipéptido con respecto a los dominios CH2 y CH3 de otro primer polipéptido. Los dominios de unión para la primera y la segunda proteína diana se forman a través de la asociación de VH₁ y VL₁ y a través de la asociación de VH₂ y VL₂, respectivamente.

20

La FIGURA 1B es un diagrama de otro compuesto ilustrativo específico para TNF-alfa e IL23A. La primera cadena de polipéptidos contiene los dominios de CH3, CH2, CH1, VH₂ (VH_{II}) y VL₁ (VL_I). La segunda cadena de polipéptidos contiene los

dominios de CL, VH₁ (VH_I) y VL₂ (VL_{II}). VL₁ y VH₁ son específicos para una primera proteína diana (ya sea TNF-alfa o IL23A) y VL₂ y VH₂ son específicos para una segunda proteína diana (ya sea IL23A o TNF-alfa). El panel superior muestra cada cadena de polipéptidos por separado. El panel inferior muestra un compuesto tetravalente formado a través de la asociación de los dominios de CH2 y CH3 de un primer polipéptido con respecto a los dominios CH2 y CH3 de otro primer polipéptido. Los dominios de unión para la primera y la segunda proteína diana se forman a través de la asociación de VH₁ y VL₁ y a través de la asociación de VH₂ y VL₂, respectivamente. El compuesto se asocia además a través de las interacciones entre los dominios de CL y CH1.

La FIGURA 2 es un gráfico que muestra las concentraciones en suero del Compuesto M y el Compuesto A mutante YTE en monos cinomolgos macho (promedio±SD; N=3) después de una infusión IV de 1 mg/kg de 10 minutos.

La FIGURA 3 es un gráfico que muestra las concentraciones en suero del Compuesto O su Compuesto E mutante YTE correspondiente en monos cinomolgos macho (promedio±SD; N=3) después de una infusión IV de 1 mg/kg de 10 minutos.

La FIGURA 4 es una serie de gráficos y una tabla que muestran que el compuesto E mantuvo una potencia funcional con respecto a IL23 *in vivo*. Los ratones se dosificaron de forma equimolar con el anticuerpo de control 3 (anticuerpo monoclonal IL23A) o el compuesto E y se estimularon con IL23 humana dos veces para inducir inflamación en las orejas. Veinticuatro horas después de la inyección final, se recolectaron las orejas y se analizaron para detectar IL17A de ratón e IL22 de ratón como medición del bloqueo funcional de IL23. El compuesto E mantuvo la potencia funcional *in vivo* con respecto al anticuerpo de control 3 (anticuerpo monoclonal IL23A) en función de la exposición final y el nivel de eficacia. Anticuerpo de control 3: cuadrados, triángulos y rombos sin pintar. Compuesto E: cuadrados, triángulos y rombos pintados. MW: Peso molecular.

15

La FIGURA 5 es una serie de gráficos y una tabla que muestran que el Compuesto E mantuvo una potencia funcional con respecto a TNF *in vivo*. Los ratones se dosificaron de forma equimolar con el anticuerpo de control 2 (anticuerpo monoclonal TNFa) o el compuesto E y se estimularon con TNF humano. Dos horas después de la estimulación, se recolectó la sangre entera y se analizó el suero para detectar KC de ratón e IL-6 de ratón como medición del bloqueo funcional de TNF. El compuesto E mantuvo la potencia funcional *in vivo* con respecto a anti-TNF en

20

función de la exposición final y el nivel de eficacia.
Anticuerpo de control 3: cuadrados, triángulos y rombos sin
pintar. Compuesto E: cuadrados, triángulos y rombos pintados.
MW: Peso molecular.

5

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

En la presente se describen compuestos que se unen a TNF-alfa
(al que también se hace referencia en la presente como TNF- α o
10 TNFa) e IL23 (a la que también se hace referencia en la presente
como IL23p19 o IL-23A). En la actualidad, no existen compuestos
aprobados que se dirijan tanto a TNF-alfa como a IL23A. Existen
estudios limitados con neutralización simultánea de dos/más
mediadores inflamatorios clave que utilicen un enfoque
15 bioterapéutico. Mientras que dichos estudios no pudieron
demostrar una mejora en los resultados clínicos que se midieron
para la artritis reumatoide (RA), hasta la actualidad no se ha
descrito un agente terapéutico bifuncional que se dirija a la
misma combinación. Además, dichas combinaciones pueden
20 aumentar los efectos secundarios, tal como el riesgo a una
infección (ver, por ejemplo, Genovese, M.C., Cohen, S.,
Moreland, F., Fium, D., Robbins, S., et ál. (2004). *Arth.*
Rheum. 50, 1412-9; Genovese, M.C., Cohen, S., Moreland, F.,
Fium, D., Robbins, S., et ál. (2004). *Arth. Rheum.* 50, 1412-9;

y Weinblatt, M., Schiff, M., Goldman, A. Kremer, J., Fuggen, M., et ál. (2007). *Ann. Rheum.Dis.66, 228-34*). Además, dichos compuestos biespecíficos han sido difíciles de diseñar debido a problemas relacionados con la solubilidad (por ejemplo, agregación) y la estabilidad (por ejemplo, farmacocinética deficiente).

De manera sorprendente, se ha hallado que los compuestos descritos en la presente que se unen tanto a TNF-alfa como IL23A tienen propiedades similares o mejoradas en comparación con anticuerpos individuales que se dirigen a IL23A o TNF-alfa. También se halló que estos compuestos tienen una farmacocinética adecuada y son solubles en intervalos adecuados a los efectos de la dosificación. Además, en algunas modalidades, hay ventajas de la administración única con respecto a la administración de múltiples dosis individuales desde la perspectiva de los efectos secundarios de las terapias individuales, y de una menor dosificación. Además, en algunas modalidades, las propiedades de CMC de los compuestos demostraron que los compuestos tenía agregación baja. En un aspecto, los compuestos ilustrativos mostraron una agregación particularmente baja. También se demostró que se optimizaron los enlazadores para mejorar la estabilidad e impidieron la escisión y que la mutación YTE mejoró la afinidad de Fe y Rn.

Se considera que los compuestos descritos en la presente tienen una o más propiedades favorables, por ejemplo, efectos secundarios disminuidos, facilidad y seguridad de administración mejorada, una semivida aumentada, una afinidad de unión aumentada o una actividad inhibidora aumentada, en comparación con moléculas de anticuerpos estándares, por ejemplo, una molécula de IgG o un fragmento de unión al antígeno (Fab).

10 Por consiguiente, los aspectos de la descripción se refieren a compuestos específicos para TNF-alfa e IL23A, así como a métodos para el uso y la producción de dichos compuestos.

Compuestos

Los aspectos de la descripción se refieren a un compuesto específico para TNF-alfa e IL23A. A continuación se muestra una secuencia proteica ilustrativa para TNF-alfa y una secuencia proteica ilustrativa para IL23A.

```

>NP_000585.2 - TNF-alfa [Homo sapiens]
MSTESMIRDVELAEEALPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGATTLEFCLLHFGVIGPQREEFPRDLSLI
SPLAQAVRSSSRTPSDKPVAVHVVANPQAEQQLQWLNRRANALLANGVELRDNQLVVPSEGLYLIYSQVLF
KGQGCPSTHVLLTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKPWYEPIYLGGVFQLEKGDRLSA
EINRPDYLDFAESGQVYFGIIAL (SEQ ID NO: 144)

```

```

>NP_057668.1 - IL23A [Homo sapiens]
MLGSRAVMLLLLLPWTAGRAVPGGSSPAWTQCQQLSQKLCTLAWSAHPLVGHMDLREEGDEETNDVPH
IQCGDGCDPQGLRDNSQFCLQRIHQGLIFYEKLLGSDIFTGEPSSLPDSPVGQLHASLLGLSQLLQPEGH
HWETQQIPSLSPSQPWQRLLLRFKILRSLQAFVAVAAARVFAGGAATLSP (los aminoácidos 1-19
son una secuencia de señal prevista) (SEQ ID NO: 145)

```

En algunas modalidades, el compuesto comprende un primer polipéptido y un segundo polipéptido. En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende (i) un dominio variable de cadena ligera de una primera inmunoglobulina (VL1) específico para una primera proteína diana, (ii) un dominio variable de cadena pesada de una segunda inmunoglobulina (VH2) específico para una segunda proteína diana; y (iii) una región bisagra, una región constante de cadena pesada 2 (CH2) y una región

constante de cadena pesada 3 (CH3). En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende además una región constante de cadena pesada 1 (CH1). En algunas modalidades, el segundo polipéptido comprende: (i) un dominio variable de cadena ligera de la segunda inmunoglobulina (VL2) específico para la segunda proteína diana; (ii) un dominio variable de cadena pesada de la primera inmunoglobulina (VH1) específico para la primera proteína diana. En algunas modalidades, el primer polipéptido comprende además una región constante de cadena ligera 1 (CL).

10

Debe entenderse que los dominios variables y los dominios/regiones constantes del primer polipéptido pueden estar en cualquier orden y que los dominios variables y los dominios/regiones constantes (si los hay) del segundo polipéptido pueden estar en cualquier orden. A continuación se muestran múltiples configuraciones ilustrativas para los dominios/regiones en el primer y el segundo polipéptido desde el extremo N al extremo C.

15

20 Primer polipéptido, configuración 1: N-VL1-VH2-bisagra-CH2-CH3-C

Primer polipéptido, configuración 2: N-VH2-VL1-bisagra-CH2-CH3-C

Primer polipéptido, configuración 3: N-VL1-VH2-CH1-bisagra-

CH2-CH3-C

Primer polipéptido, configuración 4: N-VH2-VL1-CH1-bisagra-
CH2-CH3-C

Segundo polipéptido, configuración 1: N-VL2-VH1-C

5 Segundo polipéptido, configuración 2: N-VH1-VL2-C

Segundo polipéptido, configuración 3: N-VL2-VH1-CL-C

Segundo polipéptido, configuración 4: N-VH1-VL2-CL-C.

Las configuraciones ilustrativas del compuesto se muestran en
10 las FIGURAS 1A y 1B. En algunas modalidades, el compuesto
comprende el primer polipéptido en la configuración 1 y el
segundo polipéptido en la configuración 1. En algunas
modalidades, el compuesto comprende el primer polipéptido en
la configuración 3 y el segundo polipéptido en la configuración
15 3.

En algunas modalidades, las regiones variables del primer
polipéptido y el segundo polipéptido se asocian entre sí para
formar un sitio de unión para la primera proteína diana y un
20 sitio de unión para la segunda proteína diana. En algunas
modalidades, el VL1 del primer polipéptido y el VH1 del segundo
polipéptido se asocian para formar un sitio de unión que se
une a la primera proteína diana, y el VL2 del segundo
polipéptido y el VH2 del primer polipéptido se asocian para

formar un sitio de unión que se une a la segunda proteína diana. En algunas modalidades, la primera proteína diana es TNF-alfa y la segunda proteína diana es IL23A. En otras modalidades, la primera proteína diana es IL23A y la segunda proteína diana es TNF-alfa. Se entenderá que no se pretende que los términos «primera» y «segunda» impliquen un nivel de importancia para cada proteína diana.

A continuación se proporcionan combinaciones ilustrativas de secuencias para cada VL1, VH1, VL2 y VH2 en la Tabla 1 y también en la Tabla 2A en el Ejemplo E.

Tabla 1. Combinaciones ilustrativas de secuencias para VL1, VH1, VL2 y VH2.

Número de la combinación	secuencia de VL1	secuencia de VH1	secuencia de VL2	secuencia de VH2
1	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:1	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:7
2	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:2	SEQ ID NO:1
3	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3
4	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 5
5	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO: 5
6	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:7	SEQ ID NO: 6	SEQ ID NO: 3
7	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:7
8	SEQ ID NO:4	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:7
9	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:3	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:7
10	SEQ ID NO:6	SEQ ID NO:5	SEQ ID NO:8	SEQ ID NO:7

En algunas modalidades, el compuesto comprende una secuencia de VL1 que comprende una primera cadena ligera CDR1, CDR2 y CDR3 y una secuencia de VH1 que comprende una primera cadena pesada CDR1, CDR2 y CDR3, una secuencia de VL2 que comprende una segunda cadena ligera CDR1, CDR2 y CDR3 y una secuencia de VH2 que comprende una segunda cadena pesada CDR1, CDR2 y CDR3. En algunas modalidades, las CDR son las CDR de una o más de las secuencias de VL1, VH1, VL2 y VH2 proporcionadas en la Tabla 1 o la Tabla 2A. A continuación se muestran las secuencia de CDR de cadena ligera y cadena pesada ilustrativas para las secuencias de VL1, VH1, VL2 y VH2 proporcionadas en la Tabla 1:

15 SEQ ID NO: 1 CDR: DYAMH (SEQ ID NO: 146) (CDR1),
AITWNSGHIDYADSVEG (SEQ ID NO: 147) (CDR2), VSYLSTASSLDY (SEQ
ID NO: 148) (CDR3)
SEQ ID NO: 2 CDR: RASQGIRNYLA (SEQ ID NO: 149) (CDR1), AASTLQS
(SEQ ID NO: 150) (CDR2), QRYNRAPYT (SEQ ID NO: 151) (CDR3)
20 SEQ ID NO: 3 y SEQ ID NO: 5 CDR: SYAMH (SEQ ID NO: 152) (CDR1),
FMSYDGSNKKYADSVKG (SEQ ID NO: 153) (CDR2), NYYYYGMDV (SEQ ID
NO: 154) (CDR3)
SEQ ID NO: 4 y SEQ ID NO: 6 CDR: RASQSVYSYLA (SEQ ID NO: 155)
(CDR1), DASNRAT (SEQ ID NO: 156) (CDR2), QQRSNWPPFT (SEQ ID

NO: 157) (CDR3)

SEQ ID NO: 7 CDR: DQTIH (SEQ ID NO: 158) (CDR1),
YIYPRDDSPKYNENFKG (SEQ ID NO: 159) (CDR2), PDRSGYAWFIY (SEQ ID
NO: 160) (CDR3)

5 SEQ ID NO: 8 CDR: KASRDVAIAVA (SEQ ID NO: 161) (CDR1), WASTRHT
(SEQ ID NO: 162) (CDR2), HQYSSYPFT (SEQ ID NO: 163) (CDR3)

En algunas modalidades, el compuesto comprende un VH1, VL1, VH2 y/o VL2 que comprende una secuencia que es al menos 80 %
10 (por ejemplo, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 %) idéntica a una secuencia descrita en la Tabla 1. El porcentaje de identidad de dos secuencias de aminoácidos se determina mediante el uso del algoritmo de Karlin y Altschul Proc. Natl. Acad. Sci. USA 87:2264-68, 1990, modificada tal como en Karlin
15 y Altschul, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 90:5873-77, 1993. Dicho algoritmo se incorpora a los programas NBLAST y XBLAST (versión 2.0) de Altschul, et ál. J. Mol. Biol. 215:403-10, 1990. Las búsquedas de proteínas BLAST pueden realizarse con el programa XBLAST, valor=50, longitud de palabra=3 para obtener secuencias
20 de aminoácidos homólogas a las moléculas de las proteínas de interés. Cuando existen huecos entre dos secuencias, es posible utilizar Gapped BLAST tal como se describe en Altschul et ál., Nucleic Acids Res. 25(17):3389-3402, 1997. Cuando se utilizan los programas BLAST y Gapped BLAST, pueden utilizarse los

parámetros predeterminados de los programas respectivos (por ejemplo, XBLAST y NBLAST).

En algunas modalidades, el compuesto comprende un VH1, VL1, 5 VH2 y/o VL2 que comprende una secuencia que comprende una o más (por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más) mutaciones en una secuencia descrita en la Tabla 1. Dichas mutaciones pueden ser sustituciones conservadoras de aminoácidos. Tal como se usa en la presente, una «sustitución conservadora de 10 aminoácidos» se refiere a una sustitución de aminoácidos que no altera las características de tamaño o carga relativa de la proteína en la que se realiza la sustitución de aminoácidos. Las sustituciones conservadoras de aminoácidos incluyen, por ejemplo, sustituciones realizadas entre los aminoácidos dentro 15 de los siguientes grupos: (a) M, I, L, V; (b) F, Y, W; (c) K, R, H; (d) A, G; (e) S, T; (f) Q, N; y (g) E, D.

Las secuencias de aminoácidos de la región bisagra, CH2 y CH3 del compuesto (y opcionalmente de CH1 y CL, si el compuesto 20 contiene dichas regiones) pueden obtenerse a partir de cualquier fuente adecuada, por ejemplo, una región constante de un anticuerpo tal como IgG1, IgG2, IgG3 o IgG4. Las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de cadena pesada y ligera de los anticuerpos se conocen en la técnica,

por ejemplo, las que se proporcionan en la base de datos de IMGT (www.imgt.org) o en www.vbase2.org/vbstat.php., las cuales se incorporan a la presente mediante referencia. En algunas modalidades, las secuencias de aminoácidos de CH2 y CH3 se obtienen a partir de una IgG1 o IgG4 (por ejemplo, la SEQ ID NO: 39 o 37). En algunas modalidades la CL comprende la secuencia de aminoácidos de una CL kappa o CL lambda. En algunas modalidades, la región bisagra comprende la secuencia de aminoácidos EPKSCDKTHTCPPCP (SEQ ID NO:40).

10

En algunas modalidades, la CH2 y/o la CH3 del compuesto (y opcionalmente de CH1 y CL, si el compuesto contiene dichas regiones) pueden comprender una o más sustituciones de aminoácidos que difieren de una CH2 o CH3 de tipo salvaje, por ejemplo, una o más sustituciones de aminoácidos en una CH2 o CH3 de IgG1 de tipo salvaje o una o más sustituciones de aminoácidos en una CH2 o CH3 de IgG4 de tipo salvaje (la SEQ ID NO: 39 proporciona una IgG1 de tipo salvaje ilustrativa). Dichas sustituciones son conocidas en la técnica (ver, por ejemplo, US7704497, US7083784, US6821505, US8323962, US6737056 y US7416727).

20

En algunas modalidades, la CH2 comprende una sustitución de aminoácidos en 234, 235, 252, 254, y/o 256, numeradas de

acuerdo con el índice EU de Kabat para un anticuerpo convencional (Kabat et ál. Sequences of Proteins of Immunological Interest, U.S. Department of Health and Human Services, 1991, que se incorpora a la presente en su totalidad
5 mediante referencia).

Se entenderá que todas las posiciones de aminoácidos descritas en la presente se refieren a la numeración del índice EU de Kabat para un anticuerpo convencional. En algunas modalidades,
10 la CH2 comprende una sustitución de aminoácidos en la posición 252, 254 y/o 256. En algunas modalidades, el aminoácido en la posición 252 es tirosina, fenilalanina, serina, triptófano o treonina. En algunas modalidades, el aminoácido en la posición 254 es treonina. En algunas modalidades, el aminoácido en la
15 posición 254 es serina, arginina, glutamina, ácido glutámico o ácido aspártico. En algunas modalidades, la CH2 comprende una tirosina en la posición 252, una treonina en la posición 254 y un ácido glutámico en la posición 256 (al que se hace referencia en la presente como un mutante YTE). En algunas modalidades,
20 la CH2 comprende una sustitución de aminoácidos en la posición 234 y/o 235. En algunas modalidades, la CH2 comprende una alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235, a la que también se hace referencia en la presente como un mutante KO. En algunas modalidades, la CH2 comprende una tirosina en

la posición 252, una treonina en la posición 254, un ácido glutámico en la posición 256, una alanina en la posición 234 y una alanina en la posición 235 (al que se hace referencia en la presente como un mutante KO-YTE).

5

En algunas modalidades, pueden utilizarse uno o más enlazadores para conectar dominios/regiones entre sí en el primer y/o el segundo polipéptido. Por ejemplo, el primer polipéptido puede comprender un enlazador entre el VL1 y VH2. Si el primer polipéptido comprende una CH1, el primer polipéptido puede comprender un enlazador entre el VL1 o VH2 (dependiendo de la configuración descrita anteriormente) y la CH1 (por ejemplo, VL1-enlazador-CH1 o VH2-enlazador-CH1). En otro ejemplo, el segundo polipéptido puede comprender un enlazador entre el VL2 y VH1. Si el segundo polipéptido comprende además una CL, el segundo polipéptido puede comprender además un enlazador entre el VL2 o VH1 (dependiendo de la configuración descrita anteriormente) y la CL (por ejemplo, VL2-enlazador-CL o VH1-enlazador-CL). Se entenderá que puede utilizarse cualquier cantidad de enlazadores para conectar cualquier dominio o región a cualquier otro dominio o región en el primer polipéptido y/o que puede utilizarse cualquier cantidad de enlazadores para conectar cualquier dominio o región a cualquier otro dominio o región en el segundo polipéptido.

Se contempla cualquier enlazador conocido en la técnica para su uso en la presente. En algunas modalidades, el enlazador es un enlazador peptídico. En algunas modalidades, el enlazador
5 peptídico comprende al menos dos aminoácidos, por ejemplo, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más aminoácidos. En algunas modalidades, un enlazador peptídico tiene una longitud no mayor que 50, 40, 30, 25, 20, 19, 18, 17, 16, 15, 14, 13, 12, 11, 10, 9, 8, 7, 6, 5, 4, 3 o 2 aminoácidos. En algunas modalidades,
10 un enlazador peptídico tiene una longitud entre 2 y 50, 2 y 40, 2 y 30, 2 y 20, 2 y 10, 2 y 9, 2 y 8, 2 y 7 o 2 y 6 aminoácidos. En algunas modalidades, el enlazador peptídico comprende la secuencia de aminoácidos GGGSGGG (SEQ ID NO:9), LGGGSG (SEQ ID NO: 10), FNRGES (SEQ ID NO: 11), VEPKSS (SEQ ID
15 NO: 12), o una combinación de estos. En algunas modalidades, el enlazador peptídico puede comprender múltiples copias de una secuencia enlazadora, por ejemplo, múltiples copias de la secuencia GGGSGGG (SEQ ID NO:9), LGGGSG (SEQ ID NO: 10), FNRGES (SEQ ID NO:11), VEPKSS (SEQ ID NO: 12), o una combinación de
20 estos.

En algunas modalidades, el compuesto comprende dos del primer polipéptido y dos del segundo polipéptido. En algunas modalidades, la CH₂ y la CH₃ de uno del primer polipéptido se

asocia a la CH2 o CH3 del otro del primer polipéptido para formar una molécula tetravalente (por ejemplo, los dos del primer polipéptido se dimerizan a través de asociaciones entre sus dominios de CH2 y CH3 respectivos para formar una molécula tetravalente que comprende dos sitios de unión específicos para la primera proteína diana y dos sitios de unión específicos para la segunda proteína diana). Si el primer polipéptido comprende además un dominio de CH1, el dominio de CH1 también puede participar en la formación de una molécula tetravalente (por ejemplo, los dos del primer polipéptido se dimerizan a través de asociaciones entre sus dominios de CH1, CH2 y CH3 respectivos para formar una molécula tetravalente que comprende dos sitios de unión específicos para la primera proteína diana y dos sitios de unión específicos para la segunda proteína diana). En algunas modalidades, los dos del primer polipéptido se asocian entre sí mediante al menos un enlace disulfuro.

En la presente también se contemplan otros compuestos que compiten para unirse a un compuesto tal como se describe en la presente, por ejemplo, un compuesto de prueba que compite con un compuesto tal como se describe en la presente para unirse a TNF-alfa e IL23A. En algunas modalidades, el compuesto de prueba puede tener al menos 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 96 %, 97 %, 98 % o 99 % de identidad de secuencia con un compuesto tal como

se describe en la presente. La unión competitiva puede determinarse mediante el uso de cualquier ensayo conocido en la técnica, por ejemplo, unión de equilibrio, ELISA, resonancia de plasmones superficiales o espectroscopía.

5

En algunas modalidades, el compuesto descrito en la presente se une específicamente a TNF-alfa e IL23A. Un compuesto que se «une específicamente» a un antígeno o un epítipo es una expresión conocida en la técnica, y los métodos para determinar dicha unión específica también son conocidos en la técnica. Se dice que una molécula presenta «unión específica» si esta reacciona o se asocia más frecuentemente, más rápidamente, con mayor duración y/o con mayor afinidad con respecto a un antígeno diana particular que con dianas alternativas. Un compuesto se «une específicamente» a un epítipo o antígeno diana si se une con mayor afinidad, avidez, más fácilmente y/o con mayor duración con respecto a su unión a otras sustancias. Por ejemplo, un compuesto que se une específicamente (o preferentemente) a un antígeno (por ejemplo, TNF-alfa o IL23A), o un epítipo antigénico en este, es un compuesto que se une a este antígeno diana con mayor afinidad, avidez, más fácilmente y/o con mayor duración con respecto a su unión a otros antígenos u otros epítopos en el mismo antígeno. También se entiende luego de leer esta definición que, por ejemplo, un compuesto

10
15
20

que se une específicamente a un primer antígeno diana puede o no unirse específicamente o preferentemente a un segundo antígeno diana. Como tal, la «unión específica» o «unión preferencial» no necesariamente requiere (aunque puede
5 incluir) la unión exclusiva. Generalmente, aunque no necesariamente, las referencias a la unión serán referencias a la unión preferencial. En algunos ejemplos, un compuesto que se «une específicamente» a un antígeno diana o un epítopo de este puede no unirse a otros antígenos u otros epítopos en el
10 mismo antígeno.

En algunas modalidades, un compuesto tal como se describe en la presente tiene una afinidad de unión adecuada para TNF-alfa e IL23 o los epítopos antigénicos de estos. Tal como se usa en
15 la presente, afinidad de unión se refiere a la constante de asociación aparente o K_A . La K_A es la recíproca de la constante de disociación (K_D). El compuesto descrito en la presente puede tener una afinidad de unión (K_D) de al menos 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} , 10^{-11} , 10^{-12} M o menor, para uno o ambos de los
20 antígenos diana o los epítopos antigénicos. Una afinidad de unión aumentada corresponde a una K_D disminuida. En algunas modalidades, el compuesto descrito en la presente tiene una afinidad de unión (K_D) de al menos 10^{-11} M o menor para uno o ambos de los antígenos diana o los epítopos antigénicos. Una

afinidad de unión mayor de un compuesto para un primer antígeno y un segundo antígeno en relación con un tercer antígeno puede indicarse mediante una K_A mayor (o un valor numérico menor de K_D) para la unión del primer antígeno y el segundo antígeno que la K_A (o valor numérico de K_D) para la unión del tercer antígeno. En dichos casos, el compuesto tiene especificidad para el primer antígeno y el segundo antígeno (por ejemplo, una primera proteína en una primera conformación o un mimico de esta y una segunda proteína en una primera conformación o un mimico de esta) en relación con el tercer antígeno (por ejemplo, la misma primera o segunda proteína en una segunda conformación o un mimico de esta; o una tercera proteína). Las diferencias en la afinidad de unión (por ejemplo, con respecto a la especificidad u otras comparaciones) pueden ser de al menos 1.5, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 37.5, 50, 70, 80, 91, 100, 500, 1000, 10 000 o 10^5 veces.

La afinidad de unión (o especificidad de unión) puede determinarse mediante una variedad de métodos que incluyen unión de equilibrio, ELISA, resonancia de plasmones superficiales o espectroscopía (por ejemplo, mediante el uso de un ensayo de fluorescencia). Las condiciones ilustrativas para la evaluación de la afinidad de unión se encuentran en un amortiguador de HBS-P (HEPES 10 mM, pH 7.4, NaCl 150 mM,

tensioactivo P20 al 0.005 % (v/v)). Estas técnicas pueden utilizarse para medir la concentración de la proteína de unión unida en función de la concentración de la proteína diana. La concentración de la proteína de unión unida ([Unida]) está relacionada con la concentración de la proteína diana libre ([Libre]) y la concentración de los sitios de unión para la proteína de unión en la diana en los que (N) es la cantidad de sitios de unión por molécula diana mediante la siguiente ecuación:

$$[Unida] = [N][Libre]/(K_d + [Libre])$$

Sin embargo, no siempre es necesario realizar una determinación exacta de la K_A , debido a que algunas veces es suficiente obtener una medición cuantitativa de la afinidad, por ejemplo, determinada mediante el uso de un método tal como un análisis ELISA o FACS, que es proporcional a K_A y, por lo tanto, puede utilizarse para las comparaciones, tal como mediante la determinación de si una mayor afinidad es, por ejemplo, 2 veces mayor, obtener una medición cualitativa de la afinidad, u obtener una inferencia de la afinidad, por ejemplo, mediante la actividad en un ensayo funcional, por ejemplo, en un ensayo in vitro o in vivo.

En algunas modalidades, el compuesto comprende un primer

polipéptido y un segundo polipéptido tal como se define en la Tabla 2A. En algunas modalidades, el compuesto comprende:

- (i) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14;
- (ii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16;
- (iii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18;
- (iv) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20;
- (v) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22;
- (vi) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24;
- (vii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26;

- (viii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28;
- 5 (ix) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30;
- (x) un primer polipéptido que comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32;
- (xi) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y un segundo
15 polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34;
- (xii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ
20 ID NO:36;
- (xiii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:44 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:45;

- (xiv) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:46 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:47;
- 5 (xv) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:48 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:49;
- (xvi) un primer polipéptido que comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:50 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:51;
- (xvii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:52 y un segundo
15 polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:53;
- (xviii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:54 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ
20 ID NO:55;
- (xix) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:56 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:57;

(xx) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:58 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:59;

5 (xxi) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:60 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:61;

(xxii) un primer polipéptido que comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:62 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:63;

(xxiii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:64 y un segundo
15 polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:65;

(xxiv) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:66 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ
20 ID NO:67;

(xxv) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:68 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:69;

(xxvi) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:70 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:71;

5 (xxvii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:72 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:73;

(xxviii) un primer polipéptido que comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:74 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:75;

(xxix) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:76 y un segundo
15 polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:77;

(xxx) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:78 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ
20 ID NO:79;

(xxxi) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:80 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:81;

(xxxii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:82 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:83;

5 (xxxiii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:84 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:85;

(xxxiv) un primer polipéptido que comprende la
10 secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:86 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:87;

(xxxv) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:88 y un segundo
15 polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:89;

(xxxvi) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:90 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ
20 ID NO:91;

(xxxvii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:92 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:93;

(xxxviii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:94 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:95;

5 (xxxix) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:96 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:97;

(xl) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:98 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:99;

(xli) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 100 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:101;

15 (xlii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 102 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:103;

(xliii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 104 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:105;

20 (xliv) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 106 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:107;

(xlv) un primer polipéptido que comprende la secuencia de

aminoácidos de la SEQ ID NO: 108 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:109;

(xlvi) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 110 y un segundo polipéptido que
5 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:111;

(xlvii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 112 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:113;

(xlviii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de
10 aminoácidos de la SEQ ID NO: 114 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:115;

(xlix) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 116 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:117;

15 (l) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 118 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 119;

(li) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 120 y un segundo polipéptido que
20 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 121;

(lii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 122 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 123;

(liii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de

aminoácidos de la SEQ ID NO: 124 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:125;

(liv) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 126 y un segundo polipéptido que

5 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:127;

(lv) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 128 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 129;

(lvi) un primer polipéptido que comprende la secuencia de

10 aminoácidos de la SEQ ID NO: 130 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:131;

(lvii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 132 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:133;

15 (lviii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 134 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:135;

(lix) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 136 y un segundo polipéptido que

20 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:137;

(lx) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 138 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 139;

(lxi) un primer polipéptido que comprende la secuencia de

aminoácidos de la SEQ ID NO: 140 y un segundo polipéptido que
comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:141; o
(lxii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de
aminoácidos de la SEQ ID NO: 142 y un segundo polipéptido que
5 comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:143.

En algunas modalidades, el compuesto comprende:

- (i) un primer polipéptido que comprende la secuencia
de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y un segundo polipéptido
10 que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14;
- (ii) un primer polipéptido que comprende la secuencia
de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15 y un segundo polipéptido
que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16;
- (iii) un primer polipéptido que comprende la secuencia
15 de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17 y un segundo polipéptido
que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18;
- (iv) un primer polipéptido que comprende la secuencia
de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19 y un segundo polipéptido
que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO:20;
- 20 (v) un primer polipéptido que comprende la secuencia
de aminoácidos de SEQ ID NO:21 y un segundo polipéptido que
comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22;
- (vi) un primer polipéptido que comprende la secuencia
de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y un segundo polipéptido que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24;

(vii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26;

5 (viii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28;

(ix) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y un segundo polipéptido que
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30;

(x) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32;

(xi) un primer polipéptido que comprende la secuencia
15 de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

(xii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36.

20

Métodos de producción de compuestos, ácidos nucleicos, vectores y células

Los aspectos de la descripción también incluyen ácidos

nucleicos que codifican los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente (por ejemplo el primer o segundo polipéptido descritos en la presente), que pueden codificarse juntos o separados. Pueden obtenerse los
5 polinucleótidos que codifican los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente, y determinarse la secuencia de nucleótidos de los polinucleótidos, mediante cualquier método conocido en la técnica.

10

En algunas modalidades, el ácido nucleico está comprendido dentro de un vector, tal como un vector de expresión. En algunas modalidades, el vector comprende un promotor enlazado de forma operativa al ácido nucleico.

15

Puede utilizarse una variedad de promotores para la expresión de los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente que incluyen, de modo no taxativo, promotor temprano intermedio de citomegalovirus (CMV), una LTR
20 viral tal como la LTR del virus del sarcoma de Rous, HIV-LTR, HTLV-1 LTR, el promotor temprano del virus del simio 40 (SV40), el promotor lac UV5 de *E. coli*, y el promotor del virus tk de herpes simple.

También pueden utilizarse promotores regulables. Dichos promotores regulables incluyen los que utilizan el represor de lac de *E. coli* como modulador de la transcripción para regular la transcripción de los promotores de células de mamífero que presentan el operador lac [Brown, M. et ál., Cell, 49:603-612 (1987)], los que utilizan el represor de la tetraciclina (tetR) [Gossen, M., y Bujard, H., Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89:5547-5551 (1992); Yao, F. et ál., Human Gene Therapy, 9:1939-1950 (1998); Shockelt, P., et ál., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92:6522-6526 (1995)]. Otros sistemas incluyen el dímero FK506, VP16 o p65 y el uso de astradiol, RU486, murislerona de difenol o rapamicina. Los sistemas inducibles se encuentran disponibles en Invitrogen, Clontech y Ariad.

Pueden utilizarse promotores regulables que incluyen un represor con el operón. En una modalidad, el represor de lac de *Escherichia coli* puede funcionar como un modulador de la transcripción para regular la transcripción de los promotores de células de mamífero que presentan el operador lac [M. Brown et ál., Cell, 49:603-612 (1987)]; Gossen y Bujard (1992); [M. Gossen et ál., Natl. Acad. Sci. USA, 89:5547-5551 (1992)], combinar el represor de tetraciclina (tetR) con el activador de la transcripción (VP 16) para crear una proteína de fusión de tetR-activador de la transcripción en células de mamíferos,

tTa (tetR-VP 16), con el promotor mínimo que presenta tetO obtenido a partir del promotor temprano inmediato mayor del citomegalovirus humano (hCMV) para crear un sistema de operadores tetR-tet para controlar la expresión génica en las
5 células de mamífero. En una modalidad, se utiliza un cambio inducible con tetraciclina (Yao et ál., Human Gene Therapy; Gossen et ál., Natl. Acad. Sci. USA, 89:5547-5551 (1992); Shockett et ál., Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92:6522-6526 (1995)).

10

Además, el vector puede contener, por ejemplo, algunos o todos de los siguientes: un gen marcador seleccionable, tal como el gen de neomicina para la selección de transfectantes estables o transitorios en células de mamífero; secuencias
15 potenciadoras/promotoras del gen temprano inmediato de CMV humano para niveles de transcripción altos; señales de procesamiento de ARN y terminación de la transcripción de SV40 para la estabilidad del ARNm; orígenes la replicación del poliovirus de SV40 y ColE1 para la replicación episomal adecuada;
20 sitios de unión internos del ribosoma (IRES), sitios de clonación múltiples versátiles; promotores del ARN T7 y SP6 para la transcripción in vitro de ARN sentido y antisentido. Los vectores y los métodos para producir vectores son conocidos y se encuentran disponibles en la técnica.

Puede transferirse un vector de expresión que comprende un ácido nucleico a una célula hospedadora mediante técnicas convencionales (por ejemplo, electroporación, transfección liposómica y precipitación de calcio y fosfato) y, luego, las células transfectadas se cultivan mediante técnicas convencionales para producir los compuestos descritos en la presente. En algunas modalidades, se regula la expresión de los compuestos descritos en la presente mediante un promotor constitutivo, inducible o específico del tejido.

Las células hospedadoras utilizadas para expresar los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente pueden ser células bacterianas tales como *Escherichia coli* o, preferentemente, células eucariotas. En particular, las células de mamífero tales como las células de ovario de hámster chino (CHO), junto con un vector tal como el elemento de promotor génico temprano intermedio mayor del citomegalovirus humano forman un sistema de expresión eficaz para las inmunoglobulinas (Foecking et ál., (1986) «Powerful And Versatile Enhancer-Promoter Unit For Mammalian Expression Vectors», Gene 45:101-106; Cockett et ál. (1990) «High Level Expression Of Tissue Inhibitor Of Metalloproteinases In Chinese Hamster Ovary Cells Using Glutamine Synthetase Gene

También puede utilizarse una variedad de sistemas de vectores de expresión del hospedador para expresar los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente. Dichos sistemas de expresión del hospedador representan vehículos mediante los cuales pueden producirse y, posteriormente, purificarse las secuencias de codificación de los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente, pero también representan células que pueden expresar los compuestos descritos en la presente in situ, cuando se las transforma o transfecta con las secuencias de codificación de nucleótidos adecuadas. Estos incluyen, de modo no taxativo, microorganismos tales como bacteria (por ejemplo, *E. coli* y *B. subtilis*) transformados con vectores de expresión de ADN de bacteriofagos recombinante, ADN de plásmido o ADN de cósmido que contienen secuencias de codificación para los compuestos descritos en la presente; levadura (por ejemplo, *Saccharomyces pichia*) transformada con vectores de expresión de levadura recombinantes que contienen secuencias que codifican los compuestos descritos en la presente; sistemas de células de insectos infectadas con vectores de expresión de virus recombinantes (por ejemplo, baclovirus) que contienen las secuencias que codifican los compuestos descritos en la

presente; sistemas de células vegetales infectadas con vectores de expresión recombinantes de virus (por ejemplo, virus del mosaico de la coliflor (CaMV) y virus del mosaico del tabaco (TMV) o transformadas con vectores de expresión de plásmido recombinantes (por ejemplo, plásmido Ti) que contienen las 5 secuencias que codifican las moléculas y los compuestos descritos en la presente; o sistemas de células de mamífero (por ejemplo, células COS, CHO, BHK, 293, 293T, 3T3, células linfáticas (ver, la patente estadounidense n.º 5,807,715), 10 células Per C.6 (células retinianas humanas desarrolladas por Crucell) que albergan construcciones de expresión recombinantes que contienen los promotores obtenidos a partir del genoma de células de mamífero (por ejemplo, promotor de metalotioneína) o a partir de virus de mamífero (por ejemplo, 15 el promotor tardío del adenovirus; el promotor 7.5K del virus vacuna).

En los sistemas bacterianos, puede seleccionarse una cantidad de vectores de expresión de manera favorable dependiendo del 20 uso previsto del compuesto que se expresa. Por ejemplo, cuando se debe producir una gran cantidad de dicha proteína, para la generación de composiciones farmacéuticas de los compuestos descritos en la presente, pueden ser convenientes los vectores que dirigen la expresión de altos niveles de productos de

proteína de fusión que pueden purificarse fácilmente. Dichos vectores incluyen, de modo no taxativo, el vector de expresión pUR278 de *E. coli*. (Rüther et ál. (1983) «Easy Identification Of cDNA Clones», EMBO J. 2:1791-1794), en el cual la secuencia de codificación puede estar ligada de manera individual al vector, en el mismo marco de lectura que la región de codificación de lac Z de modo tal que se produzca una proteína de fusión; vectores pIN (Inouye et ál. (1985) «Up-Promoter Mutations In The lpp Gene Of Escherichia Coli», Nucleic Acids Res. 13:3101-3110; Van Heeke et ál. (1989) «Expression Of Human Asparagine Synthetase In Escherichia Coli», J. Biol. Chem. 24:5503-5509); y similares. También pueden utilizarse vectores pGEX para expresar polipéptidos extraños como proteínas de fusión con glutatión S-transferasa (GST). En general, dichas proteínas de fusión son solubles y pueden purificarse fácilmente a partir de células lisadas mediante adsorción y unión a una matriz de perlas de glutatión-agarosa, seguida de elución en presencia de glutatión libre. Los vectores pGEX están diseñados para que incluyan trombina o sitios de escisión de proteasa de factor Xa de modo tal que el producto del gen clonado pueda liberarse del resto GST.

En un sistema de insectos, el virus de polihedrosis nuclear *Autographa californica* (AcNPV) se usa como un vector para

expresar genes extraños. El virus crece en células de *Spodoptera frugiperda*.

La secuencia de codificación puede clonarse de manera individual en regiones no esenciales (por ejemplo, el gen de polihedrina) del virus y colocarse bajo el control de un promotor de AcNPV (por ejemplo, el promotor de polihedrina).

En las células hospedadoras de mamífero, puede utilizarse una cantidad de sistemas de expresión basados en virus. En los casos en los que se utiliza un adenovirus como vector de expresión, la secuencia de codificación de de interés puede estar ligada a un complejo de control de la transcripción/traducción del adenovirus, por ejemplo, el promotor tardío y la secuencia líder tripartita. Este gen quimérico puede insertarse luego en el genoma de adenovirus mediante recombinación *in vitro* o *in vivo*. La inserción en una región no esencial del genoma viral (por ejemplo, la región E1 o E3) producirá un virus recombinante viable y capaz de expresar la molécula de la inmunoglobulina en hospedadores infectados (por ejemplo, ver Logan et ál. (1984) «Adenovirus Tripartite Leader Sequence Enhances Translation Of mRNAs Late After Infection», Proc. Natl. Acad. Sci. USA 81:3655-3659). También pueden necesitarse señales de inicio específicas para

la traducción eficaz de las secuencias de codificación de anticuerpos insertadas. Estas señales incluyen el codón de inicio ATG y las secuencias adyacentes. Adicionalmente, el codón de inicio debe estar en la misma fase con el marco de lectura de la secuencia de codificación deseada para asegurar la traducción de todo el inserto. Estos codones de inicio y señales de control de traducción exógena pueden tener diversos orígenes, tanto naturales como sintéticos. La eficacia de la expresión puede potenciarse mediante la inclusión de elementos potenciadores de la transcripción apropiados, terminadores de la transcripción, etc. (ver, Bitter et ál., (1987) «Expression And Secretion Vectors For Yeast», Methods in Enzymol. 153:516-544).

Además, se puede elegir una cepa de célula hospedadora que module la expresión de las secuencias insertadas o modifique y procese el producto génico en la forma específica deseada. Dichas modificaciones (por ejemplo, glicosilación) y procesamiento (por ejemplo, escisión) de los productos de proteína pueden ser importantes para la función de la proteína. Por ejemplo, en determinadas modalidades, los compuestos descritos en la presente pueden expresarse como un único producto génico (por ejemplo, una única cadena de polipéptidos, es decir, como un precursor de poliproteína), que requiere

escisión proteolítica mediante mecanismos celulares recombinantes o naturales para formar polipéptidos separados de los compuestos descritos en la presente. Por lo tanto, la descripción comprende la modificación genética de una secuencia

5 de ácidos nucleicos para codificar una molécula precursora de poliproteína que comprende los polipéptidos de los compuestos descritos en la presente, que incluye secuencias de codificación capaces de dirigir la escisión postraducciona

10 del precursor de poliproteína produce los polipéptidos de los compuestos descritos en la presente. La escisión postraducciona de la molécula precursora que comprende los polipéptidos de los compuestos descritos en la presente puede producirse *in vivo* (es decir, dentro de la célula hospedadora

15 mediante sistemas/mecanismos celulares recombinantes o naturales, por ejemplo, escisión de furina en un sitio adecuado) o puede producirse *in vitro* (por ejemplo incubación de dicha cadena de polipéptidos en una composición que comprende proteasas o peptidasas de actividad conocida y/o en

20 una composición que comprende condiciones o reactivos conocidos para promover la acción proteolítica deseada). En la técnica se conocen la purificación y la modificación de las proteínas recombinantes de modo tal que el diseño del precursor de poliproteína puede incluir una cantidad de modalidades

fácilmente comprendidas por un experto. Puede utilizarse cualquier proteasa o peptidasa conocida en la técnica para la modificación descrita de la molécula precursora, por ejemplo, trombina o el factor Xa (Nagai et ál. (1985) «Oxygen Binding Properties Of Human Mutant Hemoglobins Synthesized In Escherichia Coli», Proc. Nat. Acad. Sci. USA 82:7252-7255, y revisado en Jenny et ál. (2003) «A Critical Review Of The Methods For Cleavage Of Fusion Proteins With Thrombin And Factor Xa», Protein Expr. Purif. 31:1-11, cada una de las cuales se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia)), enterocinasa (Collins-Racie et ál. (1995) «Production Of Recombinant Bovine Enterokinase Catalytic Subunit In Escherichia Coli Using The Novel Secretory Fusion Partner DsbA», Biotechnology 13:982-987, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia)), furina y AcTEV (Parks et ál. (1994) «Release Of Proteins And Peptides From Fusion Proteins Using A Recombinant Plant Virus Proteinase», Anal. Biochem. 216:413-417, que se incorpora a la presente en su totalidad mediante referencia)) y la proteasa C3 del virus de la enfermedad de la fiebre aftosa.

Las células hospedadoras diferentes tienen características y mecanismos específicos para el procesamiento y la modificación postraducciona de proteínas y productos génicos. Se pueden

elegir líneas celulares o sistemas hospedadores apropiados asegurar la modificación y el procesamiento correctos de la proteína extraña expresada. A estos efectos, pueden utilizarse células hospedadoras eucariotas que posean la maquinaria celular para el procesamiento adecuado de la transcripción primaria, glicosilación y fosforilación del producto génico. Dichas células hospedadoras de mamífero incluyen, de modo no taxativo, CHO, VERY, BHK, HeLa, COS, MDCK, 293, 293T, 3T3, WI38, BT483, Hs578T, HTB2, BT20 y T47D, CRL7030 y Hs578Bst.

10

Para la producción de alto rendimiento a largo plazo de proteínas recombinantes se prefiere la expresión estable. Por ejemplo, pueden modificarse genéticamente líneas celulares que expresan de manera estable los compuestos descritos en la presente. En vez de utilizar vectores de expresión que contengan orígenes virales de replicación, las células hospedadoras se pueden transformar con ADN controlado por elementos de control de expresión adecuados (por ejemplo, promotor, potenciador, secuencias, terminadores de la transcripción, sitios de poliadenilación, etc.) y un marcador seleccionable. Luego de la introducción del ADN extraño, puede permitirse que las células modificadas crezcan durante 1-2 días en un medio enriquecido y luego cambiarlas a un medio selectivo. El marcador seleccionable en el plásmido

15
20

recombinante otorga resistencia a la selección y permite que las células integren de manera estable el plásmido a sus cromosomas y crezcan para formar focos que a su vez pueden clonarse y expandirse en líneas celulares. Este método puede
5 usarse de manera favorable para modificar genéticamente las líneas celulares que expresan los compuestos descritos en la presente. Dichas líneas celulares modificadas pueden ser particularmente útiles en la detección y la evaluación de compuestos que interactúan directa o indirectamente con los
10 compuestos descritos en la presente.

Se puede utilizar una cantidad de sistemas de selección que incluyen, de modo no taxativo, la timidina cinasa del virus del herpes simple (Wigler et ál. (1977) «Transfer Of Purified
15 Herpes Virus Thymidine Kinase Gene To Cultured Mouse Cells», Cell 11: 223-232), hipoxantina-guanina fosforribosiltransferasa (Szybalska et ál. (1992) «Use Of The HPRT Gene And The HAT Selection Technique In DNA-Mediated Transformation Of Mammalian Cells First Steps Toward Developing
20 Hybridoma Techniques And Gene Therapy», Bioessays 14: 495-500), y adenina fosforribosiltransferasa (Lowy et ál. (1980) «Isolation Of Transforming DNA: Cloning The Hamster aprt Gene», Cell 22: 817-823), dichos genes pueden utilizarse en células tk, hgprt o aprt, respectivamente. Además, puede utilizarse la

resistencia anti-metabolito como criterio de selección de los siguientes genes: dhfr, que otorga resistencia al metotrexato (Wigler et ál., (1980) «Transformation Of Mammalian Cells With An Amplifiable Dominant-Acting Gene», Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:3567-3570; O'Hare et ál. (1981) «Transformation Of Mouse Fibroblasts To Methotrexate Resistance By A Recombinant Plasmid Expressing A Prokaryotic Dihydrofolate Reductase», Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 1527-1531); gpt, que otorga resistencia al ácido micofenólico (Mulligan et ál. (1981) «Selection For Animal Cells That Express The Escherichia coli Gene Coding For Xanthine-Guanine Phosphoribosyltransferase», Proc. Natl. Acad. Sci. USA 78: 2072-2076); neo, que otorga resistencia al aminoglicósido G-418 (Tolstoshev (1993) «Gene Therapy, Concepts, Current Trials And Future Directions», Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. 32:573-596; Mulligan (1993) «The Basic Science Of Gene Therapy», Science 260:926-932; y Morgan et ál. (1993) «Human Gene Therapy», Ann. Rev. Biochem. 62:191-217) e hygromycin, que otorga resistencia a la higromicina (Santerre et ál. (1984) «Expression Of Prokaryotic Genes For Hygromycin B And G418 Resistance As Dominant-Selection Markers In Mouse L Cells», Gene 30:147-156). Los métodos comúnmente conocidos en la técnica de la tecnología de ADN recombinante que pueden utilizarse se describen en Ausubel et ál. (eds.), 1993, Current Protocols in Molecular Biology, John Wiley & Sons, NY;

Kriegler, 1990, Gene Transfer and Expression, A Laboratory Manual, Stockton Press, NY; y en los capítulos 12 y 13, Dracopoli et ál. (eds), 1994, Current Protocols in Human Genetics, John Wiley & Sons, NY.; Colberre-Garapin et ál. (1981) «A New Dominant Hybrid Selective Marker For Higher Eukaryotic Cells», J. Mol. Biol. 150:1-14.

Los niveles de expresión de los compuestos descritos en la presente o los polipéptidos descritos en la presente se pueden aumentar mediante la amplificación de vectores (para acceder a una revisión, ver Bebbington y Hentschel, The use of vectors based on gene amplification for the expression of cloned genes in mammalian cells en DNA Cloning, Vol. 3. Academic Press, Nueva York, 1987). Cuando un marcador en el sistema que expresa un compuesto descrito en la presente es amplificable, el aumento en el nivel del inhibidor presente en el cultivo de una célula hospedadora aumentará la cantidad de copias del gen marcador. Debido a que la región amplificable se asocia a la secuencia de nucleótidos de un compuesto descrito en la presente o un polipéptido descrito en la presente, también aumentará la producción del polipéptido (Crouse et ál. (1983) «Expression And Amplification Of Engineered Mouse Dihydrofolate Reductase Minigenes», Mol. Cell. Biol. 3:257-266).

La célula hospedadora se puede transfectar conjuntamente con dos vectores de expresión, de los cuales el primer vector codifica el primer polipéptido de un compuesto descrito en la presente y el segundo vector codifica el segundo polipéptido de un compuesto descrito en la presente. Los dos vectores pueden contener marcadores seleccionables idénticos que permiten una expresión euivalente de ambos polipéptidos. De manera alternativa, puede utilizarse un único vector que codifique ambos polipéptidos. Las secuencias de codificación para los polipéptidos de los compuestos descritos en la presente pueden comprender ADNc o ADN genómico.

Una vez que un compuesto descrito en la presente o un polipéptido descrito en la presente se haya expresado de manera recombinante, este puede purificarse mediante cualquier método conocido en la técnica para la purificación de polipéptidos, poliproteínas o anticuerpos (por ejemplo, análogos de los esquemas de purificación de anticuerpos en función de la selectividad de antígenos), por ejemplo, mediante cromatografía (por ejemplo, cromatografía de intercambio de iones, mediante afinidad, particularmente, mediante afinidad para el antígeno específico (opcionalmente después de la selección de proteína A en la que el compuesto comprende un

dominio de Fe (o una parte de este)), y en columna por tamaño), centrifugación, solubilidad diferencial, o mediante cualquier otra técnica estándar para la purificación de polipéptidos o anticuerpos.

5

Otros aspectos de la descripción se refieren a una célula que comprende un ácido nucleico descrito en la presente o un vector descrito en la presente. La célula puede ser una célula procariota o eucariota. En algunas modalidades, la célula es una célula de mamífero. En la presente se describen tipos celulares ilustrativos.

Aun otros aspectos de la descripción se refieren a un método para producir un compuesto descrito en la presente o un polipéptido descrito en la presente (por ejemplo, un primero polipéptido o un segundo polipéptido), en el que el método comprende obtener una célula descrita en la presente y expresar un ácido nucleico descrito en la presente en dicha célula. En algunas modalidades, el método comprende además aislar y purificar un compuesto descrito en la presente o un polipéptido descrito en la presente.

Métodos de tratamiento y composiciones para su uso en la medicina

Otros aspectos de la descripción se refieren a métodos de tratamiento y composiciones para su uso en la medicina. Los ejemplos no taxativos de compuestos para uso en dichos métodos y composiciones son los que comprenden:

- (i) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14;
- (ii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16;
- (iii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18;
- (iv) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20;
- (v) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 22;
- (vi) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 23 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 24;
- (vii) un primer polipéptido que comprende la secuencia

de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26;

(viii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y un segundo polipéptido que
5 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28;

(ix) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30;

(x) un primer polipéptido que comprende la secuencia
10 de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32;

(xi) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

15 (xii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36.

En algunas modalidades, el método de tratamiento o el uso es
20 un método para tratar una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria o su uso en dicho método. En algunas modalidades, el método comprende administrar un compuesto descrito en la presente o una composición farmacéutica que comprende dicho compuesto a un sujeto, por ejemplo, un sujeto que padece, o en

riesgo de padecer, una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria.

El sujeto que se tratará mediante los métodos descritos en la presente puede ser un mamífero, más preferentemente, un ser humano. Los mamíferos incluyen, de modo no taxativo, animales de granja, animales para deportes, mascotas, primates, caballos, perros, gatos, ratones y ratas. Un sujeto humano que necesita el tratamiento puede ser un sujeto humano que padece, en riesgo de padecer, o del cual se sospecha que padece, una enfermedad. Un sujeto que padece una enfermedad puede identificarse mediante exámenes médicos de rutina, por ejemplo, un examen físico, una prueba de laboratorio, una prueba funcional de los órganos, una tomografía computarizada o un ultrasonido. Un sujeto del cual se sospecha que padece cualquiera de dichas enfermedades puede mostrar uno o más síntomas de la enfermedad. Los signos y los síntomas de las enfermedades, por ejemplo, enfermedades autoinmunitarias e inflamatorias, son conocidos por los expertos en la técnica. Un sujeto en riesgo de padecer la enfermedad puede ser un sujeto que presenta uno o más de los factores de riesgo de esa enfermedad.

Los ejemplos no taxativos de enfermedades autoinmunitarias

incluyen artritis reumatoide, psoriasis, diabetes tipo 1, lupus
sistémico eritematoso, rechazo a un trasplante, enfermedad de
tiroides autoinmunitaria (enfermedad de Hashimoto),
sarcoidosis, scleroderma, vasculitis granulomatosa, enfermedad
5 de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad de Sjogren, espondilitis
anquilosante, artritis psoriásica, polimiositis,
dermatomiositis, poliarteritis nodosa, enfermedades cutáneas
ampollosas mediadas inmunológicamente, síndrome de Behcet,
esclerosis múltiple, esclerosis sistémica, enfermedad de
10 Goodpasture o glomerulonefritis inmunitaria mediada.

Los ejemplos no taxativos de enfermedades inflamatorias
incluyen, artritis reumatoide, psoriasis, lupus sistémico
eritematoso, alopecia areata, espondilitis anquilosante,
15 síndrome antifosfolípidos, enfermedad autoinmunitaria de
Addison, anemia hemolítica autoinmunitaria, hepatitis
autoinmunitaria, enfermedad autoinmunitaria del oído interno,
síndrome linfoproliferativo inmunitario (ALPS), púrpura
trombocitopénica autoinmunitaria (ATP), enfermedad de Behcet,
20 penfigoide bulloso, cardiomiopatía, celiaquía-dermatitis,
síndrome de inmunodeficiencia por fatiga crónica (CFIDS),
polirradiculoneuropatía desmielinizante inflamatoria crónica,
penfigoide cicatricial, enfermedad de las aglutininas frías,
síndrome de Crest, enfermedad de Crohn, enfermedad de Dego,

dermatomiasitis, dermatomiositis - juvenil, lupus discoide, crioglobulinemia esencial mixta, fibromialgia - fibromiositis, enfermedad de Grave, enfermedad de guillain-barre, tiroiditis de hashimoto, fibrosis pulmonar idiopática, púrpura trombocitopénica idiopática (ITP), nefropatía por IgA, diabetes insulino dependiente (Tipo I), artritis juvenil, enfermedad de Meniere, enfermedad del tejido conjuntivo mixta, esclerosis múltiple, miastenia grave, pénfigo vulgar, anemia perniciosa, poliarteritis nodosa, policondritis, síndromes poligrlandulares, polimialgia reumática, polimiositis y dermatomiositis, agammaglobulinemia primaria, cirrosis biliar primaria, psoriasis, fenómeno de Raynaud, síndrome de Reiter, fiebre reumática, sarcoidosis, escleroderma, síndrome de Sjogren, síndrome de la persona rígida, arteritis de Takayasu, arteritis temporal/arteritis de células gigantes, colitis ulcerosa, uveitis, vasculitis, vitíligo y granulomatosis de Wegener. En algunas modalidades, la enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria es la enfermedad de Crohn, espondilitis anquilosante o artritis psoriásica.

20

Para poner en práctica un método descrito en la presente, puede administrarse una cantidad eficaz de un compuesto o composición farmacéutica descrito en la presente a un sujeto (por ejemplo, un ser humano) que necesita el tratamiento. Se conocen diversos

sistemas de administración y pueden utilizarse para administrar los compuestos de la invención. Los métodos de administración incluyen, de modo no taxativo, las vías intradérmica, intramuscular, intraperitoneal, intravenosa, subcutánea, 5 intranasal, epidural y oral. Los compuestos de la invención pueden administrarse, por ejemplo, mediante infusión, bolo o inyección y pueden administrarse junto con otros agentes biológicamente activos tales como agentes antiinflamatorios. La administración puede ser sistémica o local. En modalidades 10 preferidas, la administración se realiza mediante inyección subcutánea. Las formulaciones para dichas inyecciones pueden prepararse, por ejemplo, en jeringas llenadas previamente que pueden administrarse una vez cada dos semanas.

15 Una «cantidad eficaz», tal como se usa en la presente, se refiere a la cantidad de cada compuesto necesaria para otorgar un efecto terapéutico sobre el sujeto, ya sea solo o en combinación con uno o más de otros compuestos. Las cantidades eficaces varían, tal como lo reconocerán los expertos en la 20 técnica, dependiendo de la afección particular que se trata, la gravedad de la afección, los parámetros del sujeto individual que incluyen, edad, condición física, talla, género, peso, la duración del tratamiento, la naturaleza de la terapia actual (si la hubiere), la vía de administración específica y

factores similares dentro del conocimiento y la experiencia del profesional de la salud. Estos factores son conocidos para los expertos en la técnica y pueden abordarse únicamente mediante el uso de la experimentación habitual. Generalmente,
5 se prefiere que se utilice una dosis máxima de los componentes individuales o combinaciones de estos, es decir, la mayor dosis segura de acuerdo con la opinión médica bien fundada. Los expertos en la técnica comprenderán, sin embargo, que un sujeto puede insistir con una dosis menor o una dosis tolerable por
10 razones médicas, razones psicológicas o virtualmente por cualquier otra razón.

Las consideraciones empíricas, tales como la semivida, generalmente contribuirán con la determinación de la
15 dosificación. Por ejemplo, puede utilizarse compuestos compatibles con el sistema inmunitario humano, tales como los compuestos que comprenden regiones de anticuerpos humanizados o anticuerpos humanos completos, para prolongar la semivida del compuesto y para impedir que el compuesto sea atacado por
20 el sistema inmunitario del hospedador. La frecuencia de administración puede determinarse y ajustarse durante el transcurso de la terapia y, generalmente, pero no necesariamente, se basa en el tratamiento y/o la supresión y/o mejora y/o demora de una enfermedad. De manera alternativa,

pueden ser apropiadas las formulaciones de liberación continua sostenida. En la técnica se conocen diversas formulaciones y dispositivos para lograr la liberación sostenida.

5 En algunas modalidades, la dosificación es diaria, cada dos días, cada tres días, cada cuatro días, cada cinco días o cada seis días. En algunas modalidades, la frecuencia de dosificación es todas las semanas, cada 2 semanas, cada 4 semanas, cada 5 semanas, cada 6 semanas, cada 7 semanas, cada 10 8 semanas, cada 9 semanas o cada 10 semanas; o una vez al mes, cada 2 meses o cada 3 meses o mayor. La evolución de esta terapia puede monitorearse fácilmente mediante ensayos y técnicas convencionales. El régimen de dosificación (que incluye el compuesto utilizado) puede variar con el transcurso 15 del tiempo.

En algunas modalidades, para un sujeto adulto de peso normal, pueden administrarse dosis que oscilan de alrededor de 0.01 a 1000 mg/kg. En algunas modalidades, la dosis es de entre 1 a 20 200 mg. El régimen de dosificación particular, es decir, la dosis, la sincronización y la repetición, dependerá del sujeto particular y el historial médico de dicho sujeto, así como de las propiedades del compuesto (tal como la semivida del compuesto y otras consideraciones conocidas en la técnica.

A los efectos de la presente descripción, la dosificación adecuada de un compuesto tal como se describe en la presente dependerá del compuesto específico empleado (o las composiciones de este), la formulación y la vía de administración, el tipo y la gravedad de la enfermedad, si el compuesto se administra a efectos preventivos o terapéuticos, la terapia previa, el historial clínico del sujeto y la respuesta al antagonista, y el criterio del médico tratante.

Usualmente, el médico administrará un compuesto hasta alcanzar una dosificación que logre el resultado deseado. La administración de uno o más compuestos puede ser continua o intermitente, dependiendo, por ejemplo, de la condición fisiológica del receptor, de si el objetivo de la administración es terapéutico o profiláctico, y de otros factores conocidos para los profesionales expertos. La administración de un compuesto puede ser esencialmente continua durante un período de tiempo preseleccionado o puede ser en una serie de dosis separadas, por ejemplo, ya sea antes, durante o después del desarrollo de una enfermedad.

Tal como se usa en la presente, el término «tratar» se refiere a la aplicación o la administración de un compuesto o una composición que incluye el compuesto a un sujeto que padece

una enfermedad, un síntoma de la enfermedad o una predisposición a la enfermedad, a los efectos de curar, sanar, aliviar, mitigar, alterar, recuperar, mejorar o afectar la enfermedad, el síntoma de la enfermedad o la predisposición a la enfermedad.

Aliviar una enfermedad incluye retrasar el desarrollo o la evolución de la enfermedad o reducir la gravedad de la enfermedad. Aliviar la enfermedad no requiere necesariamente resultados curativos. Tal como usa en la presente, «retrasar» el desarrollo de una enfermedad significa diferir, dificultar, enlentecer, demorar, estabilizar y/o posponer la evolución de la enfermedad. Este retraso puede tener extensiones de tiempo variables dependiendo del historial de la enfermedad y/o el individuo en tratamiento. Un método que «retrasa» o alivia el desarrollo de una enfermedad, o retrasa la aparición de la enfermedad, es un método que reduce la probabilidad de desarrollar uno o más síntomas de la enfermedad en un marco de tiempo dado y/o reduce la extensión de los síntomas en un marco de tiempo dado, en comparación con el no uso del método. Dichas comparaciones se basan usualmente en estudios clínicos, que utilizan una cantidad de sujetos suficiente para proporcionar un resultado estadísticamente significativo.

El «desarrollo» o la «evolución» de una enfermedad significa las manifestaciones iniciales y/o la posterior evolución de la enfermedad. El desarrollo de la enfermedad puede detectarse y evaluarse mediante el uso de técnicas clínicas estándar, tal como se conoce en la técnica. Sin embargo, el desarrollo también se refiere a la evolución de que puede ser indetectable. A los efectos de la presente descripción, el desarrollo o la evolución se refieren al transcurso biológico de los síntomas. El «desarrollo» incluye la ocurrencia, recurrencia y aparición. Tal como se usa en la presente, la «aparición» o la «ocurrencia» de una enfermedad incluye la aparición inicial y/o la recurrencia.

En algunas modalidades, el compuesto descrito en la presente se administra a un sujeto que necesita el tratamiento en una cantidad suficiente para inhibir la actividad de uno o ambos de TNF-alfa o IL23A mediante al menos 20 % (por ejemplo, 30 %, 40 %, 50 %, 60 %, 70 %, 80 %, 90 % o más) *in vivo* o *in vitro*. Los métodos para determinar la capacidad inhibidora de un compuesto son conocidos en la técnica. En los Ejemplos se proporcionan ensayos de inhibición de TNF-alfa e IL23A ilustrativos.

Pueden utilizarse métodos convencionales, conocidos por los

expertos en la técnica de la medicina, para administrar el compuesto o la composición farmacéutica al sujeto, dependiendo del tipo de enfermedad que se tratará o el sitio de la enfermedad. Esta composición también puede administrarse
5 mediante otras vías convencionales, por ejemplo, mediante administración oral, parenteral, inhalación de atomización, tópica, rectal, nasal, bucal, vaginal o mediante un depósito implantado. Tal como se usa en la presente, el término «parenteral» incluye técnicas de inyección o infusión
10 subcutánea, intracutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intraarterial, intrasinovial, intraesternal, intratecal, intralesional e intracraneal. Además esta puede administrarse al sujeto mediante vía de administración de depósito inyectable tal como mediante el uso de métodos y
15 materiales biodegradables o inyectables con un depósito de 1, 3 o 6 meses.

Composiciones farmacéuticas

20 Aun otros aspectos de la descripción se refieren a composiciones farmacéuticas que comprenden un compuesto descrito en la presente. Puede administrarse una composición que comprende un compuesto de la invención (por ejemplo, compuestos específicos para TNF-alfa e IL23A) a un sujeto que

padece o se encuentra en riesgo de padecer una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria. La invención proporciona además el uso de un compuesto de la invención en la fabricación de un medicamento para el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria. Los compuestos pueden administrarse solos o en combinación con otras composiciones en la prevención o el tratamiento de una enfermedad autoinmunitaria o inflamatoria. Los ejemplos no taxativos de los compuestos de la invención para su uso en dichas composiciones farmacéuticas son los que comprenden:

- (i) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 13 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 14;
- (ii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 15 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 16;
- (iii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 17 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 18;
- (iv) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 19 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de la SEQ ID NO: 20;
- (v) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO: 21 y un segundo polipéptido que

comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:22;

(vi) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:23 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:24;

5 (vii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:25 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:26;

(viii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:27 y un segundo polipéptido que
10 comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:28;

(ix) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:29 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:30;

(x) un primer polipéptido que comprende la secuencia
15 de aminoácidos de SEQ ID NO:31 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:32;

(xi) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:33 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:34; o

20 (xii) un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:35 y un segundo polipéptido que comprende la secuencia de aminoácidos de SEQ ID NO:36.

Tal como se usa en la presente, la expresión «composición

farmacéutica» se refiere a la formulación de un compuesto descrito en la presente en combinación con un portador farmacéuticamente aceptable. La composición farmacéutica puede comprender además agentes adicionales (por ejemplo, para su administración específica, para aumentar la semivida u otros compuestos terapéuticos).

Tal como se usa en la presente, la expresión «portador farmacéuticamente aceptable», se refiere a un material, una composición o un vehículo farmacéuticamente aceptable, tal como un relleno sólido o líquido, diluyente, excipiente, auxiliar de fabricación (por ejemplo, lubricante, magnesio en talco, estearato de cinc o calcio o ácido esteárico), o material de encapsulación de solvente, implicado en el transporte o el traslado del compuesto desde un sitio del cuerpo (por ejemplo, el sitio de administración) hacia otro sitio (por ejemplo, órgano, tejido o parte del cuerpo). Un portador farmacéuticamente aceptable es aceptable en el sentido de que es compatible con los otros ingredientes de la formulación y de que no daña el tejido del sujeto (por ejemplo, fisiológicamente compatible, estéril, pH fisiológico, etc.).

Algunos ejemplos de los materiales que pueden servir como portadores farmacéuticamente aceptables incluyen: (1)

azúcares, tal como lactosa, glucosa y sacarosa; (2) almidones, tales como almidón de maíz y almidón de papa; (3) celulosa y sus derivados, tales como carboximetilcelulosa de sodio, metilcelulosa, etilcelulosa, celulosa microcristalina y acetato de celulosa; (4) tragacanto en polvo; (5) malta; (6) gelatina; (7) agentes lubricantes, tales como estearato de magnesio, lauril sulfato de sodio y talco; (8) excipientes, tales como manteca de cacao y ceras supositorias; (9) aceites, tales como aceite de cacahuete, aceite de semilla de algodón, aceite de cártamo, aceite de sésamo, aceite de oliva, aceite de maíz y aceite de soja; (10) glicoles, tales como propilenglicol; (11) polioles, tales como glicerina, sorbitol, manitol y polietilenglicol (PEG); (12) ésteres, tales como oleato de etilo y laurato de etilo; (13) agar; (14) agentes amortiguadores, tales como hidróxido de magnesio e hidróxido de aluminio; (15) ácido algínico; (16) agua libre de pirógeno; (17) solución salina isotónica; (18) solución de Ringer; (19) alcohol etílico; (20) soluciones amortiguadoras de pH; (21) poliésteres, policarbonatos y/o polianhídridos; (22) agentes espesantes, tales como polipéptidos y aminoácidos; (23) componente en suero, tal como albúmina en suero, HDL y LDL; (22) alcoholes C2-C12, tal como etanol y (23) otras sustancias compatibles no tóxicas empleadas en formulaciones farmacéuticas. En la formulación, también pueden estar

presentes agentes humectantes, agentes colorantes, agentes de liberación, agentes de recubrimiento, agentes endulzantes, agentes saborizantes, agentes perfumantes, conservantes y antioxidantes. Las expresiones tales como «excipiente»,
5 «portador», «portador farmacéuticamente aceptable» o similares se utilizan en forma indistinta en la presente.

En algunas modalidades, se administra un compuesto de la invención en una composición mediante inyección, por medio de
10 un catéter, por medio de un supositorio o por medio de un implante, en el que el implante es de un material poroso, no poroso o gelatinoso, que incluye una membrana, tal como una membrana sikalastic, o una fibra. Típicamente, cuando se administra la composición, los materiales se utilizan
15 materiales que no absorben el compuesto de la invención.

En otras modalidades, los compuestos de la invención se administran en un sistema de liberación controlada. En una modalidad, puede utilizarse una bomba (ver, por ejemplo,
20 Langer, 1990, Science 249:1527-1533; Sefton, 1989, CRC Crit. Ref. Biomed. Eng. 14:201; Buchwald et ál., 1980, Surgery 88:507; Saudek et ál., 1989, N. Engl. J. Med. 321:574). En otra modalidad, pueden utilizarse materiales poliméricos. (Ver, por ejemplo, Medical Applications of Controlled Release (Langer y

Wise eds., CRC Press, Boca Ratón, Fla., 1974); Controlled Drug Bioavailability, Drug Product Design and Performance (Smolen y Ball eds., Wiley, Nueva York, 1984); Ranger y Peppas, 1983, Macromol. Sci. Rev. Macromol. Chem. 23:61. Ver, también, Levy et ál., 1985, Science 228:190; During et ál., 1989, Ann. Neurol. 25:351; Howard et ál., 1989, J. Neurosurg. 71:105) . Otros sistemas de liberación controlada se describen, por ejemplo, en Langer, supra.

10 Los compuestos de la invención pueden administrarse como composiciones farmacéuticas que comprenden una cantidad terapéuticamente eficaz de un agente de unión y uno o más ingredientes farmacéuticamente compatibles.

15 En modalidades típicas, la composición farmacéutica se formula de acuerdo con procedimientos habituales como una composición farmacéutica adaptada para la administración intravenosa o subcutánea a un sujeto, por ejemplo, un ser humano. Usualmente, las composiciones para administración mediante inyección son
20 soluciones en un amortiguador acuoso isotónico estéril. En los casos que sea necesario, el producto farmacéutico también puede incluir un agente solubilizante y un anestésico local tal como lignocaína para aliviar el dolor en el sitio de inyección. En general, los ingredientes se proporcionan ya sea por separado

o juntos mezclados en forma de dosificación unitaria, por ejemplo, como un polvo liofilizado seco o un concentrado sin agua en un recipiente sellado herméticamente tal como una ampolla o sachét que indique la cantidad de agente activo. En
5 los casos en los que el producto farmacéutico deba administrarse por infusión, puede dosificarse con un frasco de infusión que contenga agua de grado farmacéutico esterilizada o solución salina. En los casos en los que el producto farmacéutico se administre por inyección, puede proporcionarse
10 una ampolla de agua esterilizada para inyección o solución salina de modo tal que los ingredientes puedan mezclarse antes de la administración.

Una composición farmacéutica para administración sistémica
15 puede ser un líquido, por ejemplo, solución salina esterilizada, solución de Hank o Ringer lactada. Además, la composición farmacéutica puede encontrarse en forma sólida y volver a disolverse o suspenderse inmediatamente antes de utilizarse. También se contemplan las formas liofilizadas.

20

La composición farmacéutica puede estar contenida dentro de una vesícula o partícula lipídica, tal como un liposoma o microcristal, que también es adecuado para la administración parenteral. Las partículas pueden tener cualquier estructura

adecuada, tal como unilamelares o plurilamelares, siempre que las composiciones se encuentren contenidas en estas. Los compuestos pueden estar atrapados en «partículas lipídicas de plásmido estabilizadas» (SPLP) que contienen el lípido fusogénico dioleoilfosfatidiletanolamina (DOPE), bajos niveles (5-10 mol%) de lípido catiónico, y se encuentran estabilizadas con un recubrimiento de polietilenglicol (PEG) (Zhang Y. P. et ál., Gene Ther. 1999, 6:1438-47). Para dichas vesículas o partículas prefieren particularmente los lípidos cargados positivamente, tales como N-[1-(2,3-dioleoiloxi)propil]-N,N,N-trimetil-amonometilsulfato, o «DOTAP». La preparación de dichas partículas de lípidos es conocida. Ver, por ejemplo, las patentes estadounidenses n.º 4,880,635; 4,906,477; 4,911,928; 4,917,951; 4,920,016; y 4,921,757.

Las composiciones farmacéuticas de la presente descripción pueden administrarse o envasarse como una dosis unitaria, por ejemplo. La expresión «dosis unitaria», cuando se utiliza en referencia a una composición farmacéutica de la presente descripción, se refiere a unidades separadas físicamente adecuadas como dosificaciones unitarias para el sujeto, en las que cada unidad contiene una cantidad predeterminada de material activo calculada para producir el efecto terapéutico

deseado, junto con el diluyente necesario, es decir, portador o vehículo.

En algunas modalidades, un compuesto descrito en la presente
5 puede estar conjugado con un resto terapéutico, por ejemplo, un agente antiinflamatorio. Las técnicas para conjugar dichos restos terapéuticos con polipéptidos, que incluyen, por ejemplo, dominios Fe, son conocidas; ver, por ejemplo, Amon et ál., «Monoclonal Antibodies For Immunotargeting Of Drugs In
10 Cancer Therapy», en Monoclonal Antibodies And Cancer Therapy, Reisfeld et ál. (eds.), 1985, págs. 243-56, Alan R. Liss, Inc.); Hellstrom et ál., «Antibodies For Drug Delivery», en Controlled Drug Delivery (2.^a Ed.), Robinson et ál. (eds.), 1987, págs. 623-53, Marcel Dekker, Inc.); Thorpe, «Antibody
15 Carriers Of Cytotoxic Agents In Cancer Therapy: A Review», en Monoclonal Antibodies '84: Biological And Clinical Applications, Pinchera et ál. (eds.), 1985, págs. 475-506); «Analysis, Results, And Future Prospective Of The Therapeutic Use Of Radiolabeled Antibody In Cancer Therapy», en Monoclonal
20 Antibodies For Cancer Detection And Therapy, Baldwin et ál. (eds.), 1985, págs. 303-16, Academic Press; y Thorpe et ál. (1982) «The Preparation And Cytotoxic Properties Of Antibody-Toxin Conjugates», Immunol. Rev., 62:119-158.

Además, la composición farmacéutica puede proporcionarse como un kit farmacéutico que comprende (a) un recipiente que contiene el compuesto de la invención en una forma liofilizada y (b) un segundo recipiente que contiene un diluyente farmacéuticamente aceptable (por ejemplo, agua esterilizada) para inyección. El diluyente farmacéuticamente aceptable puede utilizarse para la reconstrucción o la dilución del compuesto liofilizado de la invención. Opcionalmente asociado con dicho/s recipiente/s puede haber un aviso de la forma prescrita por un organismo gubernamental que regula la fabricación, el uso o la venta de productos farmacéuticos o biológicos, que refleje la aprobación por parte del organismo para la fabricación, el uso o la venta para su administración en humanos.

En otro aspecto, se incluye un artículo de fabricación que contiene materiales útiles para el tratamiento de las enfermedades descritas anteriormente. En algunas modalidades, el artículo de fabricación comprende un recipiente y una etiqueta. Los recipientes adecuados incluyen, por ejemplo, frascos, viales, jeringas y tubos de ensayo. Los recipientes se podrán formar a partir de una variedad de materiales tales como vidrio o plástico. En algunas modalidades, el recipiente contiene una composición que es eficaz para el tratamiento de una enfermedad descrita en la presente y puede tener un puerto

de acceso esterilizado. Por ejemplo, el recipiente puede tener un vial o una bolsa de solución intravenosa con un tapón que pueda perforarse con una aguja de inyección hipodérmica. El agente activo en la composición es un compuesto de la invención. En algunas modalidades, la etiqueta que se encuentra en el recipiente o se asocia a este indica que la composición se utiliza para tratar la enfermedad elegida. El artículo de fabricación puede comprender además un segundo recipiente que comprende un amortiguador farmacéuticamente aceptable, tal como solución salina amortiguada con fosfato, solución de Ringer o solución de dextrosa. Este puede incluir además otros materiales convenientes desde el punto de vista comercial y del usuario, que incluyen otros amortiguadores, diluyentes, filtros, agujas, jeringas y prospectos con instrucciones de uso.

Sin ahondar en detalles, se cree que un experto en la técnica puede, en función de la descripción anterior, utilizar la presente descripción en la mayor medida posible. Las siguientes modalidades específicas se interpretarán, por lo tanto, como meramente ilustrativas, y no se limitan al resto de la descripción de ningún modo. Todas las publicaciones citadas en la presente se incorporan mediante referencia a los efectos de la materia a la que se hace referencia en la presente.

Ejemplo 1. Construcción de compuestos ilustrativos que se dirigen a IL23A y TNF-alfa

5

La Tabla 2A a continuación proporciona compuestos ilustrativos que se unen a IL23A y TNF-alfa que se utilizaron en los Ejemplos siguientes. Estos ejemplos se produjeron mediante métodos recombinantes conocidos en la técnica (ver, por ejemplo, las 10 publicaciones de PCT WO 2006/113665, WO 2008/157379 y WO 2010/080538, cada una de las cuales se incorpora a la presente mediante referencia). En resumen, los plásmidos que codifican el primer y el segundo polipéptido para cada compuesto se transfectaron juntos en células CHO-S mediante el uso del 15 reactivo FreeStyle MAX (CHO). Las células se cultivaron durante 13-14 días y los compuestos producidos por las células se purificaron mediante el uso de cromatografía de proteína A. Los compuestos se purificaron adicionalmente mediante el uso de cromatografía de exclusión por tamaño.

20

Tabla 2A. Compuestos de unión a IL23A y TNF-alfa ilustrativos

5

10

15

20

ID del Compues- to	vL de cadena larga	vH de cadena larga	vL de cadena corta	vH de cadena corta	Tipos de enlazado r	Isotipo	SEQ ID NO: (1. ^a /2. a)
Compues- to A	TNFa (1) VL (SEQ ID NO: 2)	IL23A (1)) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1)) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (1) VH (SEQ ID NO: 1)	GS	IgG1KO- YTE	13/14
Compues- to B	TNFa (1) VL (SEQ ID NO: 2)	IL23A (1)) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1)) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (1) VH (SEQ ID NO: 1)	VF	IgG1KO- YTE	15/16
Compues- to C	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (1) VH (SEQ ID NO: 1)	TNFa (1) VL (SEQ ID NO: 2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	GS	IgG1KO- YTE	17/18
Compues- to D	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (1) VH (SEQ ID NO: 1)	TNFa (1) VL (SEQ ID NO: 2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	VF	IgG1KO- YTE	19/20
Compues- to E	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (2) VH (SEQ ID NO: 3)	TNFa (2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	GS	IgG1KO- YTE	21/22
Compues- to F	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (2) VH (SEQ ID NO: 3)	TNFa (2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	VF	IgG1KO- YTE	23/24
Compues- to G	TNFa (2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A (1)) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1)) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (2) VH (SEQ ID NO: 3)	GS	IgG1KO- YTE	25/26

5

10

15

20

Compues- to H	TNFa (2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1)) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (2) VH (SEQ ID NO: 3)	VF	IgG1KO- YTE	27/28
Compues- to I	TNFa (3) VL (SEQ ID NO: 6)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1)) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (3) VH (SEQ ID NO: 5)	GS	IgG1KO- YTE	29/30
Compues- to J	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (3) VH (SEQ ID NO: 5)	TNFa (3) VL (SEQ ID NO: 6)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	GS	IgG1KO- YTE	31/32
Compues- to K	TNFa (3) VL (SEQ ID NO: 6)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1)) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (3) VH (SEQ ID NO: 5)	VF	IgG1KO- YTE	33/34
Compues- to L	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (3) VH (SEQ ID NO: 5)	TNFa (3) VL (SEQ ID NO: 6)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	VF	IgG1KO- YTE	35/36
Compues- to M	TNFa (1) VL (SEQ ID NO: 2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1)) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (1) VH (SEQ ID NO: 1)	GS	IgG1KO	44/45
Compues- to N	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (1) VH (SEQ ID NO: 1)	TNFa (1) VL (SEQ ID NO: 2)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	VF	IgG1KO	46/47
Compues- to O	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (2) VH (SEQ ID NO: 3)	TNFa (2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	GS	IgG1KO	48/49

5

10

15

20

Compues- to P	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(2) VH (SEQ ID NO: 3)	TNFa(2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO: 7)	VF	IgG1KO	50/51
Compues- to Q	TNFa(2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A(1)) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(2) VH (SEQ ID NO: 3)	GS	IgG4Pro	52/53
Compues- to R	TNFa(2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A(1)) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(2) VH (SEQ ID NO: 3)	GS	IgG4Pro- YTE	54/55
Compues- to S	TNFa(2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A(1)) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(2) VH (SEQ ID NO: 3)	GS	IgG4Pro	56/57
Compues- to T	TNFa(2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A(1)) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(2) VH (SEQ ID NO: 3)	GS	IgG4Pro- YTE	58/59
Compues- to U	TNFa(2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A(1)) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(2) VH (SEQ ID NO: 3)	VF	IgG1KO	60/61
Compues- to V	TNFa(2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A(1)) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(2) VH (SEQ ID NO: 3)	VF	IgG1WT	62/63
Compues- to W	TNFa(2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A(1)) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(2) VH (SEQ ID NO: 3)	VF	IgG4Pro	64/65

5

10

15

20

Compues- to X	TNFa (2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A (1)) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1)) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (2) VH (SEQ ID NO: 3)	VF	IgG4Pro -YTE	66/67
Compues- to Y	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (2) VH (SEQ ID NO: 3)	TNFa (2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	GS	IgG1WT	68/69
Compues- to Z	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (2) VH (SEQ ID NO: 3)	TNFa (2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	GS	IgG4Pro	70/71
Compues- to AA	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (2) VH (SEQ ID NO: 3)	TNFa (2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	GS	IgG4Pro -YTE	72/73
Compues- to AB	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (2) VH (SEQ ID NO: 3)	TNFa (2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	VF	IgG1WT	74/75
Compues- to AC	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (2) VH (SEQ ID NO: 3)	TNFa (2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	VF	IgG4Pro	76/77
Compues- to AD	IL23A (1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (2) VH (SEQ ID NO: 3)	TNFa (2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	VF	IgG4Pro -YTE	78/79

5

10

15

20

Compues- to AE	TNFa (3) VL (SEQ ID NO: 6)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1 VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (3) VH (SEQ ID NO: 5)	GS	IgG1KO	80/81
Compues- to AF	TNFa (3) VL (SEQ ID NO: 6)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1 VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (3) VH (SEQ ID NO: 5)	GS	IgG1WT	82/83
Compues- to AG	TNFa (3) VL (SEQ ID NO: 6)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1 VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (3) VH (SEQ ID NO: 5)	GS	IgG4Pro	84/85
Compues- to AH	TNFa (3) VL (SEQ ID NO: 6)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1 VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (3) VH (SEQ ID NO: 5)	GS	IgG4Pro- YTE	86/87
Compues- to AI	TNFa (3) VL (SEQ ID NO: 6)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1 VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (3) VH (SEQ ID NO: 5)	VF	IgG1KO	88/89
Compues- to AJ	TNFa (3) VL (SEQ ID NO: 6)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1 VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (3) VH (SEQ ID NO: 5)	VF	IgG1WT	90/91
Compues- to AK	TNFa (3) VL (SEQ ID NO: 6)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1 VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (3) VH (SEQ ID NO: 5)	VF	IgG4Pro	92/93
Compues- to AL	TNFa (3) VL (SEQ ID NO: 6)	IL23A (1) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A (1 VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa (3) VH (SEQ ID NO: 5)	VF	IgG4Pro- YTE	94/95

5	Compues-	IL23A(1)	TNFa(3)	TNFa(3)	IL23A(1)	GS	IgG1KO	96/97
	to AM	VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 5)	VL (SEQ ID NO: 6)	VH (SEQ ID NO: 7)			
	Compues-	IL23A(1)	TNFa(3)	TNFa(3)	IL23A(1)	GS	IgG1WT	98/99
10	to AN	VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 5)	VL (SEQ ID NO: 6)	VH (SEQ ID NO: 7)			
	Compues-	IL23A(1)	TNFa(3)	TNFa(3)	IL23A(1)	GS	IgG4Pro	100/101
	to AO	VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 5)	VL (SEQ ID NO: 6)	VH (SEQ ID NO: 7)			
15	Compues-	IL23A(1)	TNFa(3)	TNFa(3)	IL23A(1)	GS	IgG4Pro	102/103
	to AP	VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 5)	VL (SEQ ID NO: 6)	VH (SEQ ID NO: 7)		-YTE	
	Compues-	IL23A(1)	TNFa(3)	TNFa(3)	IL23A(1)	VF	IgG1KO	104/105
20	to AQ	VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 5)	VL (SEQ ID NO: 6)	VH (SEQ ID NO: 7)			
	Compues-	IL23A(1)	TNFa(3)	TNFa(3)	IL23A(1)	VF	IgG1WT	106/107
	to AR	VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 5)	VL (SEQ ID NO: 6)	VH (SEQ ID NO: 7)			
	Compues-	IL23A(1)	TNFa(3)	TNFa(3)	IL23A(1)	VF	IgG4Pro	108/109
	to AS	VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 5)	VL (SEQ ID NO: 6)	VH (SEQ ID NO: 7)			
	Compues-	IL23A(1)	TNFa(3)	TNFa(3)	IL23A(1)	VF	IgG4Pro	110/111
	to AT	VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 5)	VL (SEQ ID NO: 6)	VH (SEQ ID NO: 7)		-YTE	

5

10

15

20

Compues-	TNFa (2)	IL23A (1	IL23A (1	TNFa (2)	GS	IgG1KO	112/113
to AU	VL (SEQ ID NO: 4)	) VH (SEQ ID NO: 7)	) VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 3)			
Compues-	TNFa (1)	IL23A (1	IL23A (1	TNFa (1)	GS	IgG1WT	114/115
to AV	VL (SEQ ID NO: 2)	) VH (SEQ ID NO: 7)	) VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 1)			
Compues-	TNFa (1)	IL23A (1	IL23A (1	TNFa (1)	GS	IgG4Pro	116/117
to AW	VL (SEQ ID NO: 2)	) VH (SEQ ID NO: 7)	) VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 1)			
Compues-	TNFa (1)	IL23A (1	IL23A (1	TNFa (1)	GS	IgG4Pro	118/119
to AX	VL (SEQ ID NO: 2)	) VH (SEQ ID NO: 7)	) VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 1)		-YTE	
Compues-	TNFa (1)	IL23A (1	IL23A (1	TNFa (1)	VF	IgG1KO	120/121
to AY	VL (SEQ ID NO: 2)	) VH (SEQ ID NO: 7)	) VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 1)			
Compues-	TNFa (1)	IL23A (1	IL23A (1	TNFa (1)	VF	IgG1WT	122/123
to AZ	VL (SEQ ID NO: 2)	) VH (SEQ ID NO: 7)	) VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 1)			
Compues-	TNFa (1)	IL23A (1	IL23A (1	TNFa (1)	VF	IgG4Pro	124/125
to BA	VL (SEQ ID NO: 2)	) VH (SEQ ID NO: 7)	) VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 1)			
Compues-	TNFa (1)	IL23A (1	IL23A (1	TNFa (1)	VF	IgG4Pro	126/127
to BB	VL (SEQ ID NO: 2)	) VH (SEQ ID NO: 7)	) VL (SEQ ID NO: 8)	VH (SEQ ID NO: 1)		-YTE	

5

10

15

20

Compues- to BC	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(1) VH (SEQ ID NO: 1)	TNFa(1) VL (SEQ ID NO: 2)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO: 7)	GS	IgG1KO	128/129
Compues- to BD	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(1) VH (SEQ ID NO: 1)	TNFa(1) VL (SEQ ID NO: 2)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO: 7)	GS	IgG1WT	130/131
Compues- to BE	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(1) VH (SEQ ID NO: 1)	TNFa(1) VL (SEQ ID NO: 2)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO: 7)	GS	IgG4Pro	132/133
Compues- to BF	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(1) VH (SEQ ID NO: 1)	TNFa(1) VL (SEQ ID NO: 2)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO: 7)	GS	IgG4Pro -YTE	134/135
Compues- to BG	TNFa(2) VL (SEQ ID NO: 4)	IL23A(1)) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(2) VH (SEQ ID NO: 3)	GS	IgG1WT	136/137
Compues- to BH	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(1) VH (SEQ ID NO: 1)	TNFa(1) VL (SEQ ID NO: 2)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO: 7)	VF	IgG1WT	138/139
Compues- to BI	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(1) VH (SEQ ID NO: 1)	TNFa(1) VL (SEQ ID NO: 2)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO: 7)	VF	IgG4Pro	140/141
Compues- to BJ	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)	TNFa(1) VH (SEQ ID NO: 1)	TNFa(1) VL (SEQ ID NO: 2)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO: 7)	VF	IgG4Pro -YTE	142/143

TNFa = TNF-alfa, VL = cadena ligera de dominio variable, VH =
 cadena pesada de dominio variable, GS = GGGSGGGG (SEQ ID NO:
 9), LGGGSG (SEQ ID NO: 10), o ambas, VF = FNRGES (SEQ ID NO:
 11), VEPKSS (SEQ ID NO: 12), o ambas, IgG1WT = IgG1 de tipo
 5 salvaje; IgG1KO-YTE = IgG1 con una mutación triple
 M252Y/S254T/T256E en la región Fc y que también comprende
 mutaciones L234A/L235A, IgG4Pro-YTE = IgG4 con una mutación
 triple M252Y/S254T/T256E en la región Fc y que también
 comprende una mutación S241P, IgG1KO = región Fc truncada que
 10 comprende mutaciones L234A/L235A, IgG4Pro = comprende una
 mutación S241P. 1.^{er} = primer polipéptido, 2.º = segundo
 polipéptido. La numeración de las mutaciones es la numeración
 de Kabat para un anticuerpo convencional que comienza con la
 convención de anticuerpos en CH1.

15

También se utilizaron los siguientes anticuerpos de control e
 efectos de la comparación. Los controles fueron anticuerpos
 monoclonales que se dirigían a TNFa o IL23.

20 Tabla 2B.

5

Compuestos de control	Secuencia de VH	Secuencia de VL
Anticuerpo de control 1 (anticuerpo monoclonal contra TNFa)	TNFa(1) VH (SEQ ID NO: 1)	TNFa(1) VL (SEQ ID NO: 2)
Anticuerpo de control 2 (anticuerpo monoclonal contra TNFa)	TNFa(2) VH (SEQ ID NO: 3)	TNFa(2) VL (SEQ ID NO: 4)
Anticuerpo de control 3 (anticuerpo monoclonal contra IL23)	IL23A(1) VH (SEQ ID NO: 7)	IL23A(1) VL (SEQ ID NO: 8)

10

Ejemplo 2. Afinidad mediante resonancia de plasmones superficiales (SPR) de los ejemplos ilustrativos

15 Se analizaron los compuestos de prueba mediante SPR para determinar la afinidad para TNF-alfa e IL23A.

Materiales y métodos

20 Los experimentos de SPR se llevaron a cabo en un instrumento ProteOn XPR36 (Bio Rad). Se acondicionó previamente un chip de GLM con inyecciones secuenciales de 60 s de SDS al 0.5 %, NaOH 50 mM y HCl 100 mM una velocidad de flujo de 30 µl/min en dirección vertical y horizontal. Luego, se activó el chip de GLM acondicionado previamente mediante una inyección de una

mezcla de EDC (76.7 mg/ml) y sulfo-NHS (21.7 mg/ml) en una relación de 1:1 en 6 canales horizontales. Se inmovilizó el Fc de IgG de cabra anti-humano (GAHA) gamma (Invitrogen) a una concentración de 30 µg/ml en amortiguador de acetato de sodio 10 mM, pH 5.0 a 8000 unidades de resonancia en el chip GLM activado en 6 canales horizontales. Finalmente, se desactivó el chip con HCl de etanolamina 1 M en 6 canales horizontales. El chip de GAHA preparado se rotó a una dirección vertical para capturar los compuestos de prueba, con respecto a 5 canales verticales y el último canal se utilizó como una columna de referencia. Luego, el chip capturado se rotó nuevamente hacia la dirección horizontal para su unión. Se inyectaron IL-23 humanas unidas (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc) con cinco concentraciones, 10.0 nM, 5.00 nM, 2.50 nM, 1.25 nM y 0.625 nM, de manera horizontal con respecto a las superficies de los compuestos de prueba durante 10 minutos a una velocidad de flujo de 40 µl/min en el siguiente amortiguador de ejecución (Bio Rad): solución salina amortiguada con fosfato (pH 7.4), Tween 20 al 0.005 %. Se permitió la disociación durante 2 horas. La superficie de GAHA se regeneró mediante el uso de inyección de pulso corto (18 segundos) de ácido fosfórico al 0.85 % (Bio Rad) a una velocidad de flujo de 100 µl/min tanto en dirección horizontal como vertical después de una asociación de 10 min y una disociación de 2 h. La GAHA regenerada estaba

lista para otro ciclo de unión. La unión de los compuestos a TNF-alfa de humanos o TNF-alfa de cinomolgos se realizó de manera similar.

5 Resultados

Los resultados en la Tabla 3 muestran que ambos compuestos evaluados fueron capaces de unirse a TNF-alfa e IL23 con una constante de disociación (KD) en el intervalo picomolar.

10 Tabla 3.

ID del Compuesto	KD para TNF-alfa humano (pM)	KD para TNF-alfa de cinomolgos (pM)	KD para IL23 humana (pM)
Compuesto A	2.14	7.71	4.28 ± 2.03
Compuesto E	4.11 ± 0.68	37.1 ± 16.2	7.00 ± 6.92

15

Ejemplo 3. Evaluación de la citometría de flujo de la unión a la membrana unida a TNF-alfa

20 Los compuestos de prueba se evaluaron para determinar su capacidad de unirse de manera dependiente de la dosis a líneas celulares transfectadas para expresar el TNF alfa unido a la membrana.

Material y métodos

Todos los reactivos se prepararon en amortiguador de tinción de citometría de flujo (BioLegend). Las líneas celulares transfectadas con TNF-alfa expresado en la membrana (Jurkat y CHO) y las líneas celulares originales se recolectaron de los recipientes de cultivo celular, se lavaron, se contaron y se resuspendieron en 1×10^6 células/ml en amortiguador de tinción de citometría de flujo. Se agregó cien microlitros de la suspensión de células a placas de microtitulación de 96 pocillos y se colocaron en hielo. Se prepararon las titulaciones de compuestos de prueba y se agregó 50 uL a las células. Después de la incubación de sesenta minutos en hielo, las células + compuestos de prueba se lavaron y se agregó 50 uL de un anticuerpo secundario (Jackson ImmunoResearch). Las muestras se incubaron en la oscuridad, a 4C, durante 60 minutos, seguido por lavados. Después de un lavado final, las células se resuspendieron en 60 uL de fijador (BD Bioscience). Se determinó la fluorescencia media para cada muestra en un citómetro de flujo y se graficó con respecto a la concentración de la muestra de prueba. Se calcularon los valores de EC_{50} mediante el uso de una logística de 4 parámetros habilitada por el complemento XLfit de Excel (software Activity Base, ID Business Solutions, Ltd.).

Los valores EC_{50} de que se muestran a continuación son medias geométricas calculadas a través de experimentos múltiples para cada muestra de prueba y se muestran en la Tabla 4.

5 Resultados

Los resultados que se muestran en la Tabla 4 a continuación demuestran que los compuestos evaluados unidos a la membrana se unieron a TNF-alfa de forma dependiente de la dosis.

10 Tabla 4. Valores de EC_{50} para TNF-alfa unido a la membrana.

ID del Compuesto	EC_{50} de la unión de células Jurkat y mTNF pM (media geométrica)	EC_{50} de la unión de células CHO y mTNF pM (media geométrica)
Compuesto M	650	950
Compuesto A	910	890
15 Compuesto O	270	770
Compuesto E	200	450
Anticuerpo de control 1 (TNFa)	310	400
Anticuerpo de control 2	230	310

20 Ejemplo 4. Ensayos de citotoxicidad de L929 *in vitro*

Los compuestos se evaluaron para determinar su capacidad para inhibir la citotoxicidad inducida con TNF-alfa.

Métodos y materiales

Este protocolo utilizó el reactivo de viabilidad celular PrestoBlue™ para determinar la citotoxicidad de TNF-alfa humano recombinante. Puede descargarse un protocolo más
5 detallado para el protocolo de viabilidad celular PrestoBlue del sitio web de Invitrogen (nvitrogen.com). Se cultivaron y se recolectaron las células L929. Se transfirieron 1.5×10^4 células a cada pocillo de una placa de 96 pocillos para la incubación durante la noche a 37 °C . Se prepararon diluciones
10 en serie de los compuestos comenzando en 5 nM en medio de ensayo entero que contenía 10 µg/ml de actinomicina D y 1000 pg/ml de rhTNF-alfa. Los controles positivos contenían 20 ng/ml de rhTNF-alfa y 1 µg/ml de actinomicina D. El control negativo no contenía TNF-alfa. Se agregó 10 µL de las diluciones a los
15 pocillos correspondientes y se incubaron durante la noche a 37 °C en CO2 al 5 %. Se agregó reactivo PrestoBlue™ a los pocillos y la placa se incubó durante 2 horas a 37 °C en CO2 al 5 %. La unidad de fluorescencia relativa de cada pocillo se midió mediante el uso de un lector de placas Victor™x2 (excitación:
20 560 nm, emisión: 590 nm). Se graficaron las unidades fluorescentes (eje Y) en función de la concentración de los compuestos de prueba (eje X) y se calcularon los valores de IC₅₀ e IC₉₀ de los compuestos de prueba mediante el uso del software Graphpad.

Resultados

Los resultados de la Tabla 5 muestran que los compuestos evaluados fueron capaces de inhibir la citotoxicidad inducida con TNF-alfa de forma dependiente de la dosis.

Tabla 5.

10	ID del Compuesto	IC ₅₀ IC ₉₀	Citotoxicidad de TNF y L929 pM media geométrica
	Compuesto M	IC ₅₀	19
	Compuesto M	IC ₉₀	55
	Compuesto A	IC ₅₀	20
	Compuesto A	IC ₉₀	67
	Compuesto N	IC ₅₀	34
15	Compuesto N	IC ₉₀	
	Compuesto D	IC ₅₀	
	Compuesto D	IC ₉₀	
	Compuesto O	IC ₅₀	4.2
	Compuesto O	IC ₉₀	16
	Compuesto E	IC ₅₀	4.1
	Compuesto E	IC ₉₀	17
20	Compuesto P	IC ₅₀	3.4
	Compuesto P	IC ₉₀	14
	Compuesto F	IC ₅₀	2.5
	Compuesto F	IC ₉₀	10
	Anticuerpo de control 1 (TNFa)	IC ₅₀	62
	Anticuerpo de control 1 (TNFa)	IC ₉₀	230
	Anticuerpo de control 2 (TNFa)	IC ₅₀	20
	Anticuerpo de control 2 (TNFa)	IC ₉₀	95

Ejemplo 5. Inhibición de la liberación de IL-8 dependiente de TNF-alfa en células HeLa.

5

Se evaluaron las muestras de prueba de anti-TNF para determinar su capacidad para inhibir la liberación de IL-8 dependiente de TNF de la línea celular humana, HeLa. Las muestras se evaluaron en función a una concentración alta y baja de TNF-alfa humano recombinate y una concentración única (alta) de TNF-alfa de cinomolgos recombinate.

Materiales y métodos

En resumen, se recolectaron las células HeLa (ATCC), se lavaron, se contaron y se resuspendieron a 4×10^5 células/ml en un medio entero estándar de suero fetal bovino al 10 % (v/v) con penicilina y estreptomicina al 1 % (CM). Se agregó cien microlitros de la suspensión de células HeLa a placas de microtitulación de 96 pocillos. Se incubó previamente el TNF-alfa humano recombinate (R&D Systems) para dos concentraciones (147 nM o 4.4 nM) así como TNF-alfa de cinomolgos recombinate generado (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) (147 nM) durante 30 minutos a 37C con CM solo con titulaciones de las muestras de prueba. Después de la preincubación de la muestra

de prueba + TNF-alfa, se agregó 100 μ l de la o las mezclas a las células y se incubaron las placas a 37C con aire humedecido con CO₂ al 5 % durante 20 horas. Las muestras de control recibidas con CM (controles sin estimulación) o TNF-alfa recombinate diluido en CM (controles con estimulación). Después de la incubación, se evaluó el sobrenadante para IL8 en un kit ELISA (MesoScale Discovery) según las instrucciones del fabricante. Se determinaron los valores pg/ml de IL8 interpolada y se convirtieron en porcentaje de control (POC). El POC se graficó en función de la concentración de la muestra de prueba y se calcularon los valores de IC₅₀ e IC₉₀ mediante el uso de un modelo de logística de 4 parámetros habilitado por el complemento XLfit de Excel (software Activity Base, ID Business Solutions, Ltd.).

Se analizaron los compuestos de prueba con respecto a IC₅₀/IC₉₀ tal como se describió anteriormente, y se calcularon las medias geométricas para cada muestra de prueba y se muestran en la Tabla 6.

20

Resultados

Los resultados en la Tabla 6 muestran que los valores de la media geométrica de IC₅₀ e IC₉₀ para los compuestos evaluados fueron similares a los valores de la media geométrica de IC₅₀

e IC₉₀ para el anticuerpo de control 1 y el anticuerpo de control 2. Los datos demuestran que de los compuestos de prueba inhibieron de manera dependiente de la dosis la secreción de IL-8 inducida con TNF-alfa ya sea con TNF-alfa recombinante de cinomolgos o de humanos (para las dos concentraciones evaluadas).

Tabla 6.

ID del Compuesto	IC ₅₀	HeLa IL8 Lo- Hu-TNF pM	HeLa IL8 Hi-Hu- TNF pM media	HeLa IL8 Cyno- TNF pM media
	IC ₉₀	media geométrica	geométrica	geométrica
Compuesto M	IC ₅₀	7.9	260	150
Compuesto M	IC ₉₀	48	420	270
Compuesto A	IC ₅₀	8	280	120
Compuesto A	IC ₉₀	41	460	260
Compuesto N	IC ₅₀	9.2	350	170
Compuesto N	IC ₉₀	54	570	330
Compuesto D	IC ₅₀	11	380	190
Compuesto D	IC ₉₀	63	590	390
Compuesto O	IC ₅₀	9.9	430	300
Compuesto O	IC ₉₀	43	760	970
Compuesto E	IC ₅₀	9.2	320	180
Compuesto E	IC ₉₀	35	530	600
Compuesto P	IC ₅₀	9.2	410	210
Compuesto P	IC ₉₀	36	810	810
Compuesto F	IC ₅₀	7.9	350	190
Compuesto F	IC ₉₀	39	660	740
Anticuerpo de control 1 (TNFa)	IC ₅₀	34	330	170
Anticuerpo de control 1 (TNFa)	IC ₉₀	140	490	330
Anticuerpo de control 2 (TNFa)	IC ₅₀	11	290	280

5

Ejemplo 6. Inhibición de IL8 dependiente de TNF-alfa en sangre entera

10 TNF es un inductor potente de la liberación de IL8 de células humanas. Los compuestos se evaluaron para determinar su capacidad para inhibir la liberación de IL-8 inducida con TNF-alfa en muestras de sangre entera.

15 **Métodos y materiales**

En resumen, se agregó 120 uL de sangre entera humana con heparina a cada pocillo en una placa de microtitulación de 96 pocillos. Los reactivos de ensayo se prepararon en un medio de linfocitos T estándar (TCM). Las titulaciones de las muestras
20 de prueba se prepararon a concentraciones 10X y se incubaron previamente con una concentración 10X del TNF recombinante humano (100 ng/ml, R&D Systems) durante 1 hora a 37C. Después de esta preincubación, se agregó 30 ul de la mezcla de citocina/compuesto de prueba a la sangre entera junto con 30

uL de los controles adecuados en TCM y se incubó a 37C con aire humedecido con CO₂ al 5 % durante 48 horas. Las muestras de control recibidas con TCM (controles sin estimulación) o TNF-alfa recombinante humano diluido en TCM (controles con estimulación). Después de la incubación, se evaluó el sobrenadante para IL8 en un kit ELISA (MesoScale Discovery) según las instrucciones del fabricante. Se determinaron los valores pg/ml de IL8 interpolada y se convirtieron en porcentaje de control (POC). El POC se graficó en función de la concentración de la muestra de prueba y se calcularon los valores de IC₅₀ e IC₉₀ mediante el uso de un modelo de logística de 4 parámetros habilitado por el complemento XLfit de Excel (software Activity Base, ID Business Solutions, Ltd.).

Se analizaron los compuestos de prueba con respecto a IC₅₀/IC₉₀ tal como se describió anteriormente, y se calcularon las medias geométricas para cada muestra de prueba y se muestran en la Tabla 7.

Resultados

Los resultados en la Tabla 7 muestran que los valores de la media geométrica de IC₅₀ e IC₉₀ para los compuestos evaluados fueron similares a los valores de la media geométrica de IC₅₀ e IC₉₀ para el anticuerpo de control 1 y el anticuerpo de

control 2. Los datos demuestran que los compuestos de prueba inhibieron de manera dependiente de la dosis la liberación de iL8 inducida con TNF en sangre entera humana.

5

Tabla 7.

10

15

20

ID del Compuesto	IC₅₀ IC₉₀	TNF-IL8 de sangre entera pM media geométrica
Compuesto M	IC ₅₀	380
Compuesto M	IC ₉₀	790
Compuesto A	IC ₅₀	360
Compuesto A	IC ₉₀	490
Compuesto N	IC ₅₀	270
Compuesto N	IC ₉₀	520
Compuesto D	IC ₅₀	560
Compuesto D	IC ₉₀	1100
Compuesto O	IC ₅₀	320
Compuesto O	IC ₉₀	470
Compuesto E	IC ₅₀	340
Compuesto E	IC ₉₀	610
Compuesto P	IC ₅₀	290
Compuesto P	IC ₉₀	420
Compuesto F	IC ₅₀	310
Compuesto F	IC ₉₀	450
Anticuerpo de control 1 (TNFa)	IC ₅₀	320
Anticuerpo de control 1 (TNFa)	IC ₉₀	490
Anticuerpo de control 2	IC ₅₀	330

Ejemplo 7. Ensayos de fosforilación de NF-kappaB y STAT3

5

El acoplamiento de IL23 con su complejo receptor heterodimérico (IL12R β 1-IL23R) produce la fosforilación corriente abajo del transductor de señales y el activador del transductor 3 (STAT3). El acoplamiento de TNF con sus receptores

10 (TNFR1/TNFR2) produce la fosforilación corriente abajo del factor nuclear del potenciador génico del polipéptido ligero kappa en linfocitos B (NF- κ B). Los compuestos se evaluaron para determinar su capacidad para inhibir la fosforilación de NF- κ B dependiente de TNF en células Jurkat, y la fosforilación

15 de STAT3 dependiente de IL23 en células DB.

Métodos y materiales:

En resumen, se recolectaron los cultivos de células Jurkat (ATCC) y células DB (ATCC) que crecían en la fase logarítmica,

20 se lavaron, se contaron y se resuspendieron a 2×10^7 células/mL en un medio entero estándar (CM; RPMI1640 con FCS al 10 % (v/v) y 1X penicilina-estreptomicina (Invitrogen)). Las titulaciones de las muestras de prueba se prepararon a concentraciones 4X y se incubaron previamente con una mezcla

4X de IL23 recombinante humana (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) y TNF humano recombinante (R&D Systems) durante 1 hora a 37°C. Después de la preincubación de la mezcla de reactivo de prueba + citocina, se agregó 100 µL de la mezcla a los pocillos que contenían 100 µL de células por duplicado. Los controles se establecieron de la siguiente manera: 100 µL de TNF/IL23 diluido + 100 µL de células combinadas (control con estimulación), o 100 µL de CM + 100 µL de células combinadas (control sin estimulación). Las placas de ensayo se incubaron durante 10 minutos exactamente a 37 °C con aire humedecido con CO₂ al 5 %. Después de la incubación se prepararon lisados celulares y se evaluó p-NF-κB y p-STAT3 según las instrucciones del fabricante (MesoScale Discovery). Se determinaron los valores sin procesar de p-NF-κB y p-STAT-3 interpolada y se convirtieron en porcentaje de control (POC). El POC se graficó (eje Y) en función de la concentración del agente de prueba (eje X). Se calcularon los valores de IC₅₀ e IC₉₀ mediante el uso de un modelo logístico de 4 parámetros habilitado por el complemento XLfit de Excel (software Activity Base, ID Business Solutions, Ltd.).

Se analizaron los compuestos de prueba con respecto a IC₅₀/IC₉₀ tal como se describió anteriormente, y se calcularon las medias geométricas para cada muestra de prueba y se muestran en la

Tabla 10. Nota: este ensayo proporciona seguridad de que la molécula dual es capaz de naturalizar ambos eventos de señalización corriente abajo. El momento del ensayo resulta óptimo únicamente para la señal de p-NF- κ B y, por lo tanto, la

5 IC₅₀ / IC₉₀ calculada no refleja las potencias generales de manera cuantitativa.

Resultados

Los resultados en la Tabla 8 muestran que los compuestos de

10 prueba fueron capaces de inhibir la fosforilación de NF- κ B inducida con TNF-alfa así como la fosforilación de STAT3 inducida con IL23 en células DB.

Tabla 8.

15

ID del Compuesto	IC ₅₀ IC ₉₀	Fosforilación dual de Jurkat-pNf-Kb pM media geométrica*	Fosforilación dual de DB-pSTAT3 pM media geométrica*
Compuesto M	IC ₅₀	290	190
Compuesto M	IC ₉₀	680	580
Compuesto A	IC ₅₀	300	200
Compuesto A	IC ₉₀	480	500
Compuesto N	IC ₅₀	300	210
Compuesto N	IC ₉₀	620	760
Compuesto D	IC ₅₀	270	170
Compuesto D	IC ₉₀	810	560
Compuesto O	IC ₅₀	210	210
Compuesto O	IC ₉₀	740	580
Compuesto E	IC ₅₀	260	230
Compuesto E	IC ₉₀	340	770
Compuesto B	IC ₅₀	200	240
Compuesto B	IC ₉₀	600	600

20

5

10

15

Anticuerpo de control 1 (TNFa)	IC ₉₀	660	NA
Anticuerpo de control 2 (TNFa)	IC ₅₀	260	NA
Anticuerpo de control 2 (TNFa)	IC ₉₀	420	NA
Anticuerpo de control 3 (IL23A)	IC ₅₀	NA	89
Anticuerpo de control 3 (IL23A)	IC ₉₀	NA	230

20 *Los resultados son semicuantitativos y se optimizan más con la lectura de TNF. NA; Sin actividad

Ejemplo 8. Inhibición de la fosforilación de STAT3 inducida con IL23 en células DB

El acoplamiento de IL23 con su complejo receptor heterodimérico (IL12R β 1-IL23R) produce la fosforilación corriente abajo del transductor de señales y el activador del transductor 3 (STAT3).

Se evaluaron las muestras de prueba de anti-IL23 para determinar su capacidad para inhibir la fosforilación dependiente de IL23 en la línea celular humana de DB.

10

Materiales y métodos:

En resumen, se agregó 100 uL de la línea celular DB humana (ATCC) cultivada en la fase logarítmica a cada pocillo en una placa de microtitulación de 96 pocillos a una concentración de 1x10⁷ células/ml. Los reactivos del ensayo se prepararon en un medio entero (CM; RPMI1640 con suero fetal bovino al 10 % (v/v) 1y 1X penicilina-estreptomicina (Invitrogen)). Las titulaciones de las muestras de prueba se prepararon a concentraciones 4X y se incubaron previamente con una concentración 4X de la IL23 recombinante humana (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) durante 1 hora a 37C. Después de esta preincubación, se agregó 100 ul de la mezcla de citocina/muestra de prueba a los 100 uL de células DB y se incubó a 37C con aire humedecido con CO₂ al 5 % durante 30

minutos. Las muestras de control recibidas con CM (controles sin estimulación) o IL23 humana recombinante diluida en CM (controles con estimulación). Después de la incubación, se prepararon lisados celulares y se evaluó p-STAT3 según las instrucciones del fabricante (MesoScale Discovery). Se determinaron los valores de pSTAT sin procesar y se convirtieron en porcentaje de control (POC). El POC se graficó en función de la concentración de la muestra de prueba y se calcularon los valores de IC_{50} e IC_{90} mediante el uso de un modelo de logística de 4 parámetros habilitado por el complemento XLfit de Excel (software Activity Base, ID Business Solutions, Ltd.). Se analizaron los compuestos de prueba con respecto a IC_{50}/IC_{90} tal como se describió anteriormente, y se calcularon las medias geométricas para cada muestra de prueba y se muestran en la Tabla 9.

Resultados

Los resultados en la Tabla 9 muestran que los valores de la media geométrica de IC_{50} e IC_{90} para los compuestos evaluados fueron similares a los valores de la media geométrica de IC_{50} e IC_{90} para el anticuerpo de control anti-IL23Ap19. Los datos demuestran que los compuestos de prueba inhibieron de manera dependiente de la dosis la fosforilación inducida con IL23 de STAT3 en células DB.

Tabla 9.

5	ID del Compuesto	IC₅₀ IC₉₀	ensayo de hIL23 pSTAT3 DB pM media geométrica
	Compuesto M	IC ₅₀	190
	Compuesto M	IC ₉₀	530
	Compuesto A	IC ₅₀	210
	Compuesto A	IC ₉₀	420
	Compuesto N	IC ₅₀	240
	Compuesto N	IC ₉₀	510
	Compuesto D	IC ₅₀	280
10	Compuesto D	IC ₉₀	560
15	Compuesto O	IC ₅₀	300
	Compuesto O	IC ₉₀	720
	Compuesto E	IC ₅₀	300
	Compuesto E	IC ₉₀	700
	Compuesto P	IC ₅₀	300
	Compuesto P	IC ₉₀	620
	Compuesto F	IC ₅₀	260
	Compuesto F	IC ₉₀	600
20	Anticuerpo de control 3 (IL23A)	IC ₅₀	160
	Anticuerpo de control 3 (IL23A)	IC ₉₀	310

Ejemplo 9. Ensayo de esplenocitos de ratón dependiente de IL-23 humana (MSA)

Se utilizó un ensayo basado en esplenocitos de ratón para evaluar la capacidad de las muestras de prueba de IL23 anti-humana para inhibir la inducción de IL17 de ratón mediante IL23 recombinate humana e IL23 recombinate de cinomolgos en cultivos de esplenocitos de ratón.

Materiales y métodos:

En resumen, se aislaron células mononucleares de bazos de ratón (hembra C57BL/6 de menos de 13 semanas de edad; JAX), se lavaron, se contaron y se resuspendieron a 4×10^6 células/ml en un medio de linfocitos T estándar (TCM). Se agregó cien microlitros de la suspensión de mIL2/esplenocitos a placas de microtitulación de 96 pocillos. Se diluyó la IL23 humana recombinate (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) o IL23 de cinomolgos recombinate (Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals, Inc.) en TCM y se preincubó durante 2 horas a 37C con TCM solo o con titulaciones de muestras de prueba. Después de la preincubación de la muestra de prueba + IL23, se agregó 100 ul de la o las mezclas a las células y se incubaron las placas a 37C con aire humedecido con CO₂ al 5 % durante 48 h. Las muestras de control recibieron TCM (controles sin estimulación o IL23 humana recombinate diluida en TCM (controles con estimulación). Después de la incubación, se

determinaron los niveles de IL17 a partir del sobrenadante mediante el uso de un inmunoensayo de IL-17 de ratón Quantikine® de acuerdo con las instrucciones del fabricante (R&D Systems). Se determinaron los valores pg/ml de mIL17 interpolada y se convirtieron en porcentaje de control (POC). El POC se graficó en función de la concentración de la muestra de prueba y se calcularon los valores de IC₅₀ e IC₉₀ mediante el uso de un modelo de logística de 4 parámetros habilitado por el complemento XLfit de Excel (software Activity Base, ID Business Solutions, Ltd.). Se analizaron las muestras de prueba de anti-IL23 con respecto a IC₅₀/IC₉₀ tal como se describió anteriormente, y se calcularon las medias geométricas para cada muestra de prueba y se muestran en la Tabla 10.

15 Resultados

Los resultados de la Tabla 10 muestran que los compuestos evaluados fueron capaces de inhibir la liberación de IL17 en esplenocitos de ratón inducida con IL23 de cinomolgos y humano.

20 Tabla 10.

ID del Compuesto	IC ₅₀ IC ₉₀	huIL23 MSA pM media geométrica	CynoIL23 MSA pM media geométrica
Compuesto M	IC ₅₀	140	120
Compuesto M	IC ₉₀	1600	890
Compuesto A	IC ₅₀	180	120
Compuesto A	IC ₉₀	1700	730
Compuesto N	IC ₅₀	230	140
Compuesto N	IC ₉₀	2000	940

5

10

15 Ejemplo 10. Inhibición de la fosforilación de STAT3 inducida
con IL23

El acoplamiento de IL23 con su complejo receptor heterodimérico (IL12R β 1-IL23R) produce la fosforilación corriente abajo del transductor de señales y el activador del transductor 3 (STAT3). Los compuestos se evaluaron para determinar su capacidad para inhibir la activación de STAT3 inducida con IL23 en células DB transfectadas estables.

Materiales y métodos

Las células se estimularon con una concentración final de 15 ng/ml de la proteína IL23. Se estimó que esta dosis sería la EC60 de acuerdo con experimentos previos, mientras que se permitió la inhibición con el compuesto de prueba. Las células se colocaron en placas, se dosificó el compuesto y se agregó IL-23 (en ese orden) y se incubó durante la noche. Cuando el compuesto inhibió la estimulación celular, STAT3 se reguló por disminución, lo que llevó a una actividad de la luciferasa menor.

10

Resultados

Los resultados de la Tabla 11 muestran que los compuestos evaluados fueron capaces de inhibir la fosforilación de STAT3 inducida con IL23.

15 Tabla 11.

ID del Compuesto	IC ₅₀ IC ₉₀	IL23A pSTAT3 (MG) pM media geométrica
Compuesto M	IC ₅₀	120
Compuesto M	IC ₉₀	300
Compuesto A	IC ₅₀	130
Compuesto A	IC ₉₀	1100
Compuesto O	IC ₅₀	160
Compuesto O	IC ₉₀	650
Compuesto E	IC ₅₀	140
Compuesto E	IC ₉₀	830
Compuesto P	IC ₅₀	69
Compuesto P	IC ₉₀	480
Compuesto F	IC ₅₀	90
Compuesto F	IC ₉₀	650
Anticuerpo de control 3(IL23A)	IC ₅₀	35

20

5

Ejemplo 11. Ensayos de Stat3 e IL23-A adicionales

Se llevaron a cabo experimentos adicionales de manera similar al Ejemplo 8 para evaluar la inhibición de la activación de
10 STAT3 inducida con IL23.

Métodos y materiales

Células en suspensión de clon 10 DB-STAT3Luc10 se cultivaron en RPMI1640 + FBS al 10 %. Se agregaron 20 000 células por
15 pocillo de las placas de 96 pocillos a 80ul/pocillo de la suspensión celular. Se agregó 10 ul de uno de los compuestos diluidos en serie a cada pocillo. Se agregó 15 ng/mL de IL-23 recombinante humana a cada pocillo, en los que determinados pocillos contenían solo los compuestos de prueba y no IL-23, a
20 efectos de la comparación. Se incubaron las placas durante la noche a 37 °C / CO₂ al 5 %. La actividad de la luciferasa se sometió a un ensayo mediante el uso de Steady-Glo Promega y One-Glo Promega y los resultados se leyeron en un lector Envision.

Resultados

La IC_{50} e IC_{90} para los compuestos evaluados se muestran en la Tabla 12 y la Tabla 13. Estas tablas muestran que los compuestos inhibieron la activación de STAT3 dependiente de IL-23 de manera dependiente de la dosis.

Tabla 12.

ID del Compuesto	IC_{50} (pM)	IC_{90} (pM)
Compuesto N	235.2	873.7
Anticuerpo de control 3(IL23A)	96.5	192.6
Compuesto D	185.6	871.6
Compuesto E	211.9	965.1
Anticuerpo de control 3(IL23A)	104.3	198.8
Compuesto G	220.2	1151.0
Compuesto C	162.7	620.4
Anticuerpo de control 3(IL23A)	80.3	181.3

Tabla

ID del Compuesto	Primera prueba		Segunda prueba		Media geométrica	
	IC_{50} (pM)	IC_{90} (pM)	IC_{50} (pM)	IC_{90} (pM)	IC_{50} (pM)	IC_{90} (pM)
Anticuerpo de control 3(IL23A)			96.5	192.6	93.1	190.8
			104.3	198.8		
			80.3	181.3		
Compuesto N	178.6	856.4	235.2	873.7	205.0	865.0
Compuesto D	178.1	657.2	185.6	871.6	181.8	756.8
Compuesto E	170.2	764.9	211.9	965.1	189.9	859.2
Compuesto G	187.1	600.5	220.2	1151.0	203.0	831.4
Compuesto C	134.9	352.6	162.7	620.4	148.1	467.7

Ejemplo 12. Inhibición de la liberación de IL17A e IL22 de
5 ratón inducida con IL23 recombinante humana

Los compuestos de prueba se evaluaron para determinar su
capacidad para inhibir la liberación de citocina inducida con
IL23 humana en ratones C57/Bl6. La secreción de IL17A e IL22
10 se mide después de la inyección intradérmica de IL23.

MATERIALES Y MÉTODOS

En resumen, se dividieron aleatoriamente ratones hembra C57BL/6
(de 7-10 semanas, Charles River) en 8 grupos, 8 animales/grupo
15 y se les proporcionó una inyección intraperitoneal de 100 µl
de cada amortiguador de citrato (NaCitrato 20 mM, NaCl 115 mM,
pH 6.0) o compuestos de prueba a una dosis molar equivalente
de 1.3, 0.4 y 0.13 mg/kg con respecto a 1, 3 y 0.1 mg/kg,
respectivamente.

20

Una hora después de que los ratones con dosificación del
compuesto de prueba se anestesiaran mediante isoflurano (Butler
Schain) y se les proporcionara una inyección intradérmica de
20µl de BSA al 0.1 % (Sigma) control o 15 µg/ml (0.3 µg) de

rhIL23 (generada en el laboratorio) diluida en solución salina (Invitrogen) en ambas orejas. Los estímulos intradérmicos se repitieron diariamente durante dos días consecutivos. Veinticuatro horas después del segundo estímulo, los ratones
5 fueron sacrificados mediante dislocación cervical y se extirparon las orejas. El tejido de las orejas se homogeneizó en 1 ml de amortiguador de homogeneización (HBSS (Gibco); Triton X-100 al 0.4 % (Sigma); 1X inhibidor de la proteasa SigmaFast (Sigma)) mediante el uso de un homogeneizador Fast-
10 Prep 24 de MP Biomedicals. Las muestras homogeneizadas se centrifugaron a 4C durante 10 min y se recolectó el sobrenadante. El sobrenadante se sometió a ensayo para determinar la presencia de IL17A e IL22 de ratón, mediante el uso de inmunoensayos Quantikine® de IL-17 de ratón e IL-22 de
15 ratón de acuerdo con las instrucciones del fabricante (R&D Systems). Se determinaron los valores en pg/ml de la citocina interpolada para cada muestra. Se determinaron los niveles de pg/ml promedio para cada grupo de tratamiento y se comparó la importancia con el control calculado mediante el uso de ANOVA
20 unidireccional mediante la prueba de comparación múltiple de Dunnett. Los resultados se muestran en la FIGURA 4.

RESULTADOS

Los resultados en la FIGURA 4 muestran que el tratamiento con

una dosis intraperitoneal única del compuesto de prueba fue capaz de inhibir significativamente la liberación de IL17 e IL22 de ratón en la piel inducida con dos inyecciones intradérmicas consecutivas diarias de IL23 humana recombinante.

Ejemplo 13. Inhibición de la liberación de citocina dependiente de TNF-alfa humano exógeno en ratones C57/Bl6

Los compuestos de prueba se evaluaron para determinar su capacidad para inhibir la liberación de citocina inducida con TNF humano en ratones C57/Bl6 después de la exposición exógena a TNF humano. Se midió la secreción de IL-6 y KC en suero a continuación de la administración intraperitoneal de TNF humano.

Materiales y métodos

En resumen, se dividieron aleatoriamente ratones hembra C57BL/6 (de 8-9 semanas, Jackson Labs) en 8 grupos, 8 animales/grupo y se les proporcionó una inyección intraperitoneal de 200 µl de cada solución salina amortiguada con fosfato (Sigma) o compuestos de prueba a una dosis molar equivalente de 13.3, 4 y 1.3 mg/kg con respecto a 10, 3 y 1 mg/kg, respectivamente.

Dos horas después de que los ratones con dosificación del compuesto de prueba se anestesiaron mediante isoflurano (Butler Schain) y se les proporcionara una inyección intraperitoneal de 200 µl de BSA al 0.1 %, control o 15 µg/ml (3 µg) de rhTNF (Sigma) diluida en solución salina (Sigma). Dos horas después del estímulo con TNF, los ratones se anestesiaron mediante isoflurano, se recolectó la sangre entera y los ratones fueron sacrificados luego mediante dislocación cervical. La sangre entera se centrifugó a 12 000 rpm durante 10 minutos y se recolectó el plasma. El plasma se sometió a ensayo para determinar la presencia de IL-6 y KC de ratón, mediante el uso de inmunoensayos MultiPlex® de KC de ratón e IL-6 de ratón de acuerdo con las instrucciones del fabricante (MSD). Se determinaron los valores en pg/ml de la citocina interpolada para cada muestra. Se determinaron los niveles de pg/ml promedio para cada grupo de tratamiento y se comparó la importancia con el control calculado mediante el uso de ANOVA unidireccional mediante la prueba de comparación múltiple de Dunnett. Los resultados se muestran en la Figura X.

20

Resultados

Los resultados en la FIGURA 5 muestran que el tratamiento con una dosis intraperitoneal única del compuesto de prueba fue capaz de inhibir significativamente la liberación de IL-6 y KC

de ratón en suero inducida con inyección intraperitoneal de TNF humano recombinante.

Ejemplo 14. Farmacocinética de los compuestos en monos
5 cinomolgos

Materiales y métodos

Se llevaron a cabo estudios de PK con una dosis intravenosa (IV) única para dos pares de compuestos (Compuesto M y 10 Compuesto A; y Compuesto O y Compuesto E) en monos cinomolgos machos (N=3 por grupo) sin tratamiento biológico y se llevaron a cabo de acuerdo con las indicaciones del Comité Institucional para el Cuidado y Uso de Animales. Se administraron las dosis IV a 1 mg/kg como infusión IV de 10 min. Se recolectaron 15 muestras de suero antes de la dosis, 1, 4, 8 h el día de la dosificación, los días 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 14, 21, 28, 35 y 42 (1008 h) después de la dosificación para el Compuesto M y el Compuesto A; y solo hasta el día 14 para el Compuesto O y el Compuesto E. Se midieron las concentraciones en suero de 20 las moléculas dosificadas mediante un ensayo de unión a ligandos (ELISA).

Se prepararon muestras de la curva estándar de calibración y control de calidad (QC) en suero al 100 % para cada analito.

Cada curva estándar consistió en siete puntos distintos a cero que comenzaron en 10 240 ng/mL y luego se diluyeron en serie 3x. También se incluyó una muestra vacía (matriz sin analito). Se prepararon cuatro muestras de QC para intervalos bajo, medio
5 y alto que comenzaron en 2560 ng/mL y luego se diluyeron en serie cuatro veces. Las muestras de curva estándar y QC se almacenaron congeladas hasta el análisis de las muestras en cuyo momento se diluyeron 20 veces para imitar las muestras del estudio. Las muestras de curva estándar y QC se incluyeron
10 en duplicado durante cada ejecución analítica. Se definieron los límites de cuantificación inferior y posterior como los puntos de la curva estándar más bajo y más alto capaces de reproducirse y tienen una concentración retrocalculada que no excede el 25 por ciento (%) de la concentración nominal. El
15 criterio de aceptación para las muestras de puntos de la curva estándar y QC fue de 25 por ciento (%) de la concentración nominal.

Se recubrieron placas de ELISA Nunc con 1 µL de IgG de cabra
20 anti-humana adsorbida por monos Southern Biotech) como reactivo de captura y se incubaron durante la noche a 2-8°C. Después del lavado y el bloqueo de las placas con el amortiguador de lavado (Tween 20 al 0.05 % (v/v) en solución salina amortiguada con fosfato (PBS)) y amortiguador de bloqueo (albúmina de suero

bovino (BSA) al 5 % en PBS), se agregaron las muestras estándar, de QC, y muestras desconocidas, diluidas 1:20, 1:400 y 1:8000 con suero de mono al 5 % (suero de mono de Innovative Research) a los pocillos de las placas y se incubaron durante 5 1 hora a temperatura ambiente. Los pocillos de las placas se lavaron con el amortiguador de lavado y se les agregó IgG de cabra anti-humana biotinilada adsorbida por monos (Southern Biotech) como reactivo secundario y se incubaron a temperatura ambiente durante 1 hora. Las placas se lavaron 3 veces y se 10 les agregó 100 µL de estreptavidina conjugada con peroxidasa 1 µg/mL durante 15 min a temperatura ambiente, seguido por lavado de 3 veces adicionales y la adición de 100 µL de sustrato de 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidina (TMB, BioFX) durante 3-4 min a temperatura ambiente. La reacción se detuvo mediante la adición 15 de 100 µL de solución de detención (BioFX) y se midió la absorbancia mediante el uso de un lector de placas de Molecular Devices con el software SoftmaxPro versión 5.4.1.

Resultados

20 Se llevaron a cabo estudios de PK con una dosis IV única para dos pares de compuestos de prueba (Compuesto M y Compuesto A; y Compuesto O y Compuesto E) en monos cinomolgos machos (N=3 por grupo) sin tratamiento biológico. Los compuestos de prueba se dosificaron a 1 mg/kg como infusión IV de 10 min. Se

Las concentraciones en suero (promedio y SD) para cada una de
10 las moléculas se resumen en la Tabla 14.

Tabla 14: Concentraciones en suero (promedio $\pm$ SD, N=3) para los compuestos de prueba en monos cinomolgos

Tiempo (día)	Compuesto M		Compuesto A		Compuesto O		Compuesto E	
	Promedio (nM)	SD (nM)	Promedio (nM)	SD (nM)	Promedio (nM)	SD (nM)	Promedio (nM)	SD (nM)
0	0	0	0	0	0	0	0	0
0.042	89.62	26.41	115.60	15.44	96.69	23.15	107.57	10.43
0.167	75.30	17.97	108.03	22.92	92.29	19.75	102.36	4.81
0.333	69.71	9.19	89.15	16.32	65.27	11.53	86.45	10.65
1	54.49	13.94	63.68	6.69	30.10	12.41	52.87	8.85

2	35.17	8.93	49.95	6.04	7.44	3.22	32.51	6.30
3	18.58	6.66	43.51	6.64	4.14	0.70	24.65	6.49
4	13.86	5.61	40.02	8.50	2.76	0.25	19.02	4.84
5	9.55	3.40	43.69	19.63	1.96	0.09	13.98	3.84
7	3.76	1.31	27.84	3.29	1.08	0.21	8.49	3.38
10	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	0.3797	NA
14	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL	BQL

5

BQL: por debajo del límite de cuantificación

NC: no calculado, N=1

10

Se calcularon los parámetros de farmacocinética (PK) para estos compuestos de prueba mediante el uso del software Phoenix WinNonlin 6.1 (Certara, MD, EE. UU.) mediante el uso del método no compartimental para la dosis de infusión IV. Las muestras
15 de suero que mostraron una caída precipitada en las concentraciones en cualquier momento después de la dosificación y todas las muestras posteriores en ese animal particular se excluyeron de la estimación de los parámetros de PK. Los análisis adicionales mostraron que esta caída repentina en las
20 concentraciones después de los primeros pocos días se debió al desarrollo de anticuerpos contra los compuestos para una molécula biológica humanizada en los monos. Solo se incluyeron los datos de los primeros siete días en el análisis de PK. Los gráficos de concentración-tiempo se muestran en las FIGURAS 2

y 3 para los dos pares de compuestos de prueba. Los parámetros de PK clave (promedio $\pm$ SD) para los dos pares de compuestos de prueba se resumen en la Tabla 15.

5 Tabla 15: Parámetros de PK clave (promedio $\pm$ SD, N=3) para los dos pares de compuestos de prueba en monos cinomolgos después de una dosis de infusión IV de 1 mg/kg de 10 min

10

ID del Compuesto	AUC (nM.día)	CL (mL/día/kg)	Vss (mL/kg)	T1/2 (día)	MRT (día)
Compuesto M	186 $\pm$ 48.3	28,2 $\pm$ 7.8	62,4 $\pm$ 13.7	1,6 $\pm$ 0.04	2,2 $\pm$ 0.1
Compuesto A	592 $\pm$ 68.3	8,5 $\pm$ 1.1	71,5 $\pm$ 8.9	6,2 $\pm$ 0.5	8,4 $\pm$ 1.0
Compuesto O	98,0 $\pm$ 14.7	51,8 $\pm$ 7.8	76,1 $\pm$ 30.3	2,3 $\pm$ 0.8	1,4 $\pm$ 0.4
Compuesto E	244 $\pm$ 54.6	21,2 $\pm$ 4.5	65,0 $\pm$ 3.9	2,5 $\pm$ 0.3	3,1 $\pm$ 0.5

15

20

El Compuesto A, el compuesto de prueba con la mutación YTE mostró una reducción de 3.3 veces en la eliminación (CL) y un aumento de 3.9 veces en la semivida terminal (T1/2) en comparación con el compuesto de prueba correspondiente que no contenía la mutación YTE (Compuesto M). El Compuesto E, el compuesto de prueba con la mutación YTE mostró una reducción de 2.4 veces en CL en comparación con el compuesto de prueba correspondiente que no contenía la mutación YTE (Compuesto O).

Ejemplo 15. Predicción de la PK en humanos y la dosis en humanos del compuesto ilustrativo

Predicción de la PK en humanos:

La predicción de la PK en humanos del Compuesto E se realizó mediante escala alométrica de los parámetros de PK obtenidos en monos cinomolgos mediante el uso de un factor de reducción de 2 veces en la eliminación en humanos en comparación con los monos mientras que se mantuvo el mismo volumen de distribución. Por lo tanto, la eliminación prevista en humanos es 12.1 mL/día/kg con una semivida terminal de 7.4 días.

10

Predicción de la dosis en humanos:

La predicción de la dosis en humanos se realizó en función de los datos de exposición extensa-eficacia disponibles de los ensayos clínicos de golimumab en diversas poblaciones de pacientes. Golimumab (Simponi®) está aprobado para tratar pacientes con artritis reumatoide (RA), espondilitis anquilosante (AS) y artritis psoriásica (PsA) con dosis subcutáneas (SC) mensuales de 50 mg, y pacientes con colitis ulcerosa (UC) con dosis SC mensuales de 100 mg. Simponi® alcanza una C_{mínima} de aproximadamente 3.2 nM en pacientes con RA (dosis SC mensuales de 50 mg) y 9.7 nM (dosis SC mensuales de 100 mg) en pacientes con UC (Simponi® BLA, 2009; Sandborn, 2013). Estos se utilizan como puntos de referencia para las C_{mínimas} terapéuticas para AS y CD, respectivamente. Los

20

niveles de $C_{\text{mínima}}$ en las dosis clínicamente aprobadas de Stelara son de alrededor de 6 nM. En función de la observación de una potencia 3 veces mayor del Compuesto E en comparación con ustekinumab (Stelara®), son necesarios valores de $C_{\text{mínima}}$ de ~ 2 nM para que el Compuesto E cubra IL23. Debido a que la concentración $C_{\text{mínima}}$ para cubrir TNF es mayor que la necesaria para cubrir IL23, en las proyecciones se utilizó la $C_{\text{mínima}}$ de 9.7 nM para Simponi®.

El modelo compartimental de los datos de PK en el mono cinomolgo (modelo de 2 compartimentos) seguidos de las simulaciones de Monte-Carlo mediante el uso de una escala de reducción de 2 veces de CL, una biodisponibilidad de 73 %, y constantes de velocidad de distribución y eliminación simultáneamente variables con CV de 30 % nominal y una distribución logarítmica normal muestran que dosis subcutáneas de 54 mg (90 % de intervalos de seguridad de 31-90 mg) SC administradas cada dos semanas mantendrán una $C_{\text{mínima}}$ de 9.7 nM.

Ejemplo 16. Purificación de los compuestos

20

Métodos

Los compuestos se purificaron mediante el uso de Mab Select SuRe como una etapa de purificación por afinidad. Se evitan los lavados con alto contenido de sal para evitar la

agregación. La elución se llevó a cabo mediante el uso de un amortiguador de acetato de sodio, pH 3.5. A continuación de la purificación con Mab Select SuRe, la muestra se neutralizó y se aplicó a una resina de hidroxipatita tipo 1 y se eluyó
5 mediante el uso de diversas concentraciones de amortiguador de fosfato. El pico de monómero eluyó con ~140 mM, NaCl 100 mM, pH 7.0 y el pico de agregado eluyó con NaFosfato ~200 mM, NaCl 100 mM, pH 7.0. A continuación de la hidroxipatita, la muestra fue constantemente monómero >95 %.

10 Se utilizó un experimento de velocidad de sedimentación (SV) mediante ultracentrifugación analítica (AUC) para proporcionar información sobre la pureza de la muestra y los estados de agregación. Las muestras se centrifugaron en XL-I óptima (Beckman Coulter, Fullerton, CA) a 20 °C mediante un rotor de
15 4 orificios An60Ti con ejecución a 40 000 rpm. El proceso de sedimentación se monitoreó mediante absorbancia ultravioleta a 280 nm, mediante el uso del amortiguador de dilución correspondiente como amortiguador de referencia. La variación en la distribución de concentración en la célula de la
20 ultracentrífuga con el transcurso del tiempo se recolectó mediante el uso del software operativo de XL-I y se analizó mediante el uso de un modelo de distribución continua $c(S)$ en el software SEDFIT (versión 14.1) para proporcionar el coeficiente de distribución de sedimentación. Se calculó el

porcentaje de monómero en función del área de pico integrada.

Resultados

Los resultados de la purificación de los compuestos se muestran en la tabla 16. Los datos muestran que los compuestos tienen una pureza y homogeneidad alta que indica buena estabilidad.

Tabla 16.

Parámetro	Compuesto A	Compuesto E
Porcentaje de monómero (velocidad de sedimentación)	99.4	99.0

Ejemplo 17: Perfil de espectrometría de masas de los compuestos

Métodos

Muestra natural

Este procedimiento proporcionó la masa intacta del compuesto o la proteína. Se inyectaron 2 ul de la muestra a una columna Agilent Poroshell 300SB-C8, 5 um, (75x1.0 mm). La temperatura de la columna fue de 80 °C y la velocidad de flujo fue de 50 ul/min. El compuesto o la proteína se eluyó de la columna con un gradiente de B al 20 % a los 0 minutos a B al 85 % a los 10 minutos. La fase móvil A fue de agua/acetonitrilo/ácido

144
fórmico (99/1/0.1) y la ase móvil B fue de
acetonitrilo/agua/ácido fórmico (95/5/0.1). El efluente se
dirigió hacia un espectrómetro de masas Agilent 6210 TOF, que
se escaneó de la masa 600 a la masa 3200. Los datos sin procesar
5 se deconvolucionaron con el programa MassHunter.

Muestra reducida

Este procedimiento proporcionó la masa de la proteína o la
cadena ligera y la masa de la cadena pesada. Se agregaron 2 ul
10 de TCEP 50 mM a 10 ul de la muestra y 10 ul de guanidina 8 M y
se incubaron durante 15 minutos a 37 °C. Se inyectaron 2 ul
de la muestra tal como se describió anteriormente, con las
siguientes diferencias: la temperatura de la columna fue de 60
°C y el intervalo de masa fue de 600-2000.

15

Muestra desglicosilada

Este procedimiento proporcionó la masa desglicosilada de la
proteína o de la cadena ligera y de la cadena pesada. Se
incubaron 10 ul de la muestra, 10 ul de NH_4HCO_3 200 mM, 2 ul de
20 TCEP 50 mM, y 1 ul de (1:10) PNGasa F (o 1 uL de mezcla de
desglicosilación QA si estaban presentes glicosilaciones
enlazadas a O) durante 3 horas a 37 °C. La incubación se
aumentó hasta toda la noche para las muestras con glicosilación
pesada. Luego, se agregaron 25 ul de guanidina 8 M y 4 ul de

TCEP 50 mM y se incubaron durante 15 minutos a 37 °C. Esta mezcla se inyectó tal como se describió anteriormente para la mezcla reducida.

5 *Mapeo de péptido de proteína mediante espectrometría de masas*

Se agregaron 25 ul de la muestra a 25 ul de urea 8 M en bicarbonato de amonio 400 mM. Luego, se agregaron 5 ul de TCEP 50 mM y la muestra se incubó durante 15 minutos a 60 °C. Después de enfriar la muestra hasta temperatura ambiente, se agregaron
10 5 ul de idoacetamida 150 mM y la muestra se incubó a temperatura ambiente durante 15 minutos. Después de agregar 40 ul de agua, se agregaron 5 ul de tripsina en HCl 1 mM para proporcionar una enzima final: relación de sustrato de 1:50. La muestra se incubó a 37 °C durante la noche. Luego, se
15 inyectaron 5 ul en una columna Thermo Hypurity C18, 100x1.0 mm. La velocidad de flujo fue de 80 ul/min. La proteína se eluyó de la columna con un gradiente de B al 0 % a los 0 minutos a B al 40 % a los 33 minutos. La fase móvil A fue de agua/acetonitrilo/ácido fórmico (99/1/0.1) y la ase móvil B
20 fue de acetonitrilo/agua/ácido fórmico (95/5/0.1). El efluente se dirigió a un espectrómetro de masas Thermo Orbitrap Velos. El primer evento de barrido se produjo en FT, y los barridos de la masa 300 a la masa 2000 con una resolución de 3000. Del segundo al séptimo evento de barrido se produjeron en IT

(trampa de iones) y se fragmentaron los 6 iones más intensos del primer evento de barrido. Se elaboró un perfil de los péptidos que contenían glicosilación mediante extracción manual y se calcularon los porcentajes en función de las alturas de los picos.

Resultados

Los resultados se muestran en la Tabla 17. Los datos indican que se han expresado y recuperado la estructura y la secuencia de aminoácidos prevista sin heterogeneidad inesperada. El patrón de glicosilación es típico de un anticuerpo convencional expresado en células CHO y no muestra ninguna estructura atípica.

Tabla 17.

Parámetro	Compuesto A	Compuesto E
Espectrometría de masas: Perfil de peso molecular intacto	Secuencia intacta/coincidente	Secuencia intacta/coincidente
Espectrometría de masas: Perfil de glicosilación	No determinado	Similar a IgG expresada en CHO

Ejemplo 18: Estabilidad térmica de los compuestos

Métodos

Se monitoreó el desplegamiento térmico y la agregación de soluciones de los compuestos de 2 mg/ml en amortiguador de fosfato de 20 °C a 110 °C a una velocidad de barrido de 60 °C/h mediante DSC capilar automático (MicroCal, LLC, Boston). Se

5 llevaron a cabo dos barridos con el amortiguador correspondiente para establecer el historial térmico del instrumento y obtener el punto de referencia del instrumento para cada muestra, con el promedio de estos barridos sustraído del termograma de proteína posterior para obtener la capacidad

10 térmica aparente. Luego, se analizaron los barridos normalizados con Origin 7.0. Los puntos de referencia previos a la transición se sustrajeron de cada termograma de capacidad térmica resultante para proporcionar la capacidad térmica excedente resultante ($C_{p,ex}$) en función de la temperatura. Los

15 valores indicados de las temperaturas de transición (T_m) representan las posiciones de los picos máximos determinados mediante inspección visual de los termogramas experimentales.

Resultados

20 Los resultados se muestran en la Tabla 18. Los datos muestran que los compuestos son estables y se podría predecir la capacidad de que tengan una vida útil larga.

Tabla 18.

Parámetro	Compuesto A	Compuesto E
Estabilidad térmica (°C)	57.9, 72.1, 82.9	67.6, 83.1

5 Ejemplo 19: Solubilidad de los compuestos

Métodos

Las muestras de compuestos se concentraron gradualmente hasta una concentración lo más alta posible sin precipitación observada mediante el uso de un filtro de centrifugación Amicon Ultra con un peso molecular reducido de 50 000 Dalton (Millipore, Billerica). Las soluciones proteicas concentradas se analizaron luego en experimento de SV mediante AUC para proporcionar información sobre la pureza de la muestra y los estados de agregación (remitirse al Ejemplo 16 con respecto a la purificación para acceder a los detalles del método).

Resultados

Los resultados se muestran en la Tabla 19. Los datos muestran que los compuestos son solubles y estables y retienen un alto porcentaje de monómeros sin formulación o excipientes agregados.

Tabla 19.

Parámetro	Compuesto A	Compuesto E
Solubilidad (Concentración)	48 mg/ml	51 mg/ml
Porcentaje de monómeros	98.6	97.0

5 Ejemplo 20: Valencia de los compuestos

Métodos

La medición de la valencia para las muestras del compuesto en KCl 50 mM y amortiguador de acetato de sodio 10 mM a pH 5.0 se
10 llevó a cabo en un aparato ProteomeLab PA800™ de Beckman Coulter (Fullerton, California) equipado con un detector de absorbancia ultravioleta (UV), con una longitud de onda de trabajo de 214 nm. El sistema se mantuvo a 20 °C y se utilizó una amina eCap capilar con un diámetro interno de 50 µm
15 (Beckman Coulter, parte #477431). El capilar se enjuagó con NaOH 100 mM, solución de regeneración de aminas (Beckman Coulter, parte # 477433) y amortiguador de ejecución antes de cada inyección de la muestra. Se midieron los tiempos de migración para las muestras a voltajes de 10 kV, 14 kV y 18
20 kV. Se utilizó dimetilformamida (DMF) (0.005 %) (Pierce) como un marcador de flujo electroosmótico (EOF). Los datos se adquirieron mediante el uso del software 32 Karat™ (v7.0). Se determinó el coeficiente de difusión a partir del experimento de SV mediante AUC

Resultados

Los datos de la valencia (ver Tabla 20) indican una estabilidad coloidal de los compuestos en solución, es decir, la interacción neta de la proteína y la proteína en solución. Los compuestos con una valencia mayor que 15 tienen una interacción repulsiva neta fuerte y un potencial alto para formularse a una concentración alta.

Tabla 20.

Parámetro	Compuesto A	Compuesto E
Valencia, pH 5.0	20.9	24.4

Ejemplo 21: Inmunogenicidad prevista en silicio

15

Métodos

La inmunogenicidad de los agentes terapéuticos de proteína se predijo en silicio mediante el uso de una herramienta informática, EpiMatrix desarrollada por EpiVax, Inc. (Providence, RI). EpiMatrix incorpora la predicción del epítipo que asiste a T, así como el T-regítipo, de los cuales el primero provoca una respuesta inmunitaria mientras que el último es inhibidor. En resumen, la secuencia de proteína se analizó, en primer lugar, en marcos de péptidos de 9 mer superpuestos

que se había probado que eran el núcleo de la unión de HLA clase II. Se evaluó el potencial de unión de los péptidos de 9 mer con respecto a cada uno de los 8 alelos de HLA clase II comunes en función de los datos experimentales o la predicción informática. Se genera una clasificación para reflejar el potencial de unión del péptido de 9 mer con respecto a cada alelo de HLA y se lleva a cabo la normalización para hacer posible la comparación de cualquiera de 9 mer a través de múltiples alelos de HLA y permitir la predicción de inmunogenicidad a escala global. Al final, el programa genera una «clasificación de inmunogenicidad» general, clasificación tReg Adjusted Epx, que junto con otros determinantes de la inmunogenicidad ayuda a tomar una decisión fundada de la probabilidad de que los compuestos provoquen una respuesta inmunitaria in vivo.

Resultados

Los resultados se muestran en la Tabla 21. Los registros de inmunogenicidad general para estos compuestos son bajos y se predice que estos compuestos posiblemente no producirán una respuesta inmunitaria fuerte in vivo

Tabla 21.

Parámetro	Compuesto A	Compuesto E
EpiVax	-37.7, -35.6	-31.1, -46.8

Normalización de registros específicos del alelo

5 Ejemplo 22: Estabilidad de los compuestos en sangre entera

Métodos

Se desarrolló un ensayo de interferencia en sangre entera en un octeto RED96 para detectar los efectos de la unión no específica o la unión fuera de la diana para los compuestos en presencia de la sangre entera WB. Se incubaron las soluciones de los compuestos en sangre entera y amortiguador de ejecución cinético 1x (1xkb) a una temperatura de 37 °C durante 48 horas. Se llevaron a cabo mediciones cinéticas para las muestras de compuestos incubadas con un octeto RED96 equipado con puntas de un biosensor de estreptavidina (SA) (ForteBio, Menlo Park, CA) a 27 °C. Se indicó la relación de las señales de velocidad de asociación/de unión en amortiguador y sangre entera. Se consideró que una relación < 2 no muestra interferencia.

20

Resultados

Los resultados se muestran en la Tabla 22.

Tabla 22.

Parámetro	Compuesto A	Compuesto E
Relación de señales de unión en sangre entera/amortiguador cinético con respecto a TNFa hu	1.5	1.4

5

Ejemplo 23: Resumen de parámetros evaluados

En la Tabla 23 a continuación se muestra un resumen de los datos de los parámetros para determinados compuestos.

10

Tabla 23.

15

20

Parámetro	Compuesto A	Compuesto E
Porcentaje de monómero después del proceso de purificación de dos etapas	99.4 %	99 %
Perfil de espectrometría de masas	Intacto	Intacto
pI tal como se determinó mediante IEF (heterogeneidad)	~8.8	~8.8
Estabilidad térmica (calorimetría diferencial de barrido)	57.9, 72.1, 82.9	67.6, 83.1
Solubilidad	48 mg/ml	51 mg/ml
Valencia a pH 5.0	20.9	24.4
Inmunogenicidad prevista (Registro de EpiVax)	-37.69, -35.57	-31.1, -46.8
Estabilidad de la sangre entera (WB humana) 48 h a 37 C); mantenimiento de la unión a IL23 y TNFa	Mantenida	Mantenida

SECUENCIAS

SEQ ID NO	Secuencia
1	EVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSATITWNSGHIDY ADSVVEGRFTISRDNANKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTILVTVS S
2	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPS RFGSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIK
3	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLWVAFMSYDGSNKKY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT TVTVSS
4	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPA RFGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIK
5	QVQLVESGGGVVQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKY ADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT TVTVSS
6	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPA RFGSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIK
7	QVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSKASGYTFDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKY NENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTILVTVSS
8	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPS RFGSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIK
9	GGGSGGG
10	LGGGSG
11	FNRGES
12	VEPKSS

5

10

15

20

13	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAIPDRSGYAWFIYWGQGTLLTVVSSLGGGSGASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
14	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTD FTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAAS GFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVTEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKVSYLSTASSLDYWGQGTLLTVVSSLGGGSGRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
15	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFSGSGSGTD FTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEVKKPGSSVKVSCKAS GYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADKSTSTAYMELSSLRSEDTAVYY CAIPDRSGYAWFIYWGQGTLLTVVSSFNRESASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTV SWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC PPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQY NSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLT CLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHY TQKSLSLSPGK
16	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFSGSGSRTD FTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGLVQPGRSLRLSCAAS GFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVTEGRFTISRDNAKNSLYLQMNSLRAEDTAVYY CAKVSYLSTASSLDYWGQGTLLTVVSSVEPKSSRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAK VQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

10

15

20

17	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTIISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGGEVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLLTVSSLGGSASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYI TREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK
18	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTLLTVSSLGGSGRVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTTL SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
19	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTIISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGGEVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLLTVSSFNREGESASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYI TREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPGK

5

10

15

20

20	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTITSSLPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTLVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSTLT SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
21	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTITSSLPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQTTVTVSSLGGGSGASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
22	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSDSTYSLSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

10

15

20

23	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT'TVTVSSFNRGESASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK
24	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT'LVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
25	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT'LVTVSSLGSGASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYI TREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK

5

26	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTIISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFI FSSYAMHWVRQAPNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT TVTVSSLGGGSGRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
----	--

10

27	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLIYDASNRATGIPARFS GSGSGDFTLTIISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSCKASGYTFDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYENFVKGVITITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQGLTVTVSSFNRRGESASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVEPKSCDKHTCTPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYI TREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPGK
----	--

15

28	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTIISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFI FSSYAMHWVRQAPNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT TVTVSSVEPKSSRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
----	--

20

5

10

15

20

29	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKCASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGTTLVTVSSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYI TREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPGK
30	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTITSSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSSLGGGSGRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
31	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTITSSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSSLGGGSGASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPS SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYT QKSLSLSPGK

5

10

15

20

32	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGTGLVTVSSSLGGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
33	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGTGLVTVSSFNREGESASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTGPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLYI TREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPDSIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLS LSPGK
34	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSVEPKSSRTVAA PSVFIFFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

10

15

20

35	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSFNRGESASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLYITREPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPGK
36	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKCASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSLSTLT LSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
37	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK PKDTLMISRTPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNH YTQKSLSLSLG
38	ASTKGPSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPK PKDTLYITREPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVL HQDWLNGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGF YPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNH YTQKSLSLSLG

5

39	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEAL HNHYTQKSLSLSPG
40	EPKSCDKTHTCPPCP
41	RTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKD STYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
42	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLYITREPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEAL HNHYTQKSLSLSPGK
43	ASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLY SLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLF PPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVL TVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLV KGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSVSMHEAL HNHYTQKSLSLSPG

10

15

20

5

10

15

20

44	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIISSLPEDVATYYCQRYNRAPYTFGGGTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSKKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLVTVSSLGSGGASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSL SPG
45	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTIISSLPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLLTVSSLGSGSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT LKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
46	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTIISSLPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLLTVSSFNRGESASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPG

47	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTLVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSSTLT SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
48	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSLGGSASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVTLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYT QKSLSLSPG
49	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTLVTVSSLGGSGRVTAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

10

15

20

50	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSFNRGESASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHCTPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
51	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKCASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTLVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
52	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKCASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTLVTVSSSLGGSGASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSL G

5

10

15

20

53	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTITISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSLGGGSGRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
54	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITRE PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSL SLG
55	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTITISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSLGGGSGRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

10

15

20

56	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GS GSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LTVTVSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVKDRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPV LDDSGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSL G
57	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GS GSRTDFTLT ISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPG RSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT TTVTVSSLGGGSGRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
58	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GS GSGTDFTLT ISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKV SCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSED TAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT LTVTVSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKTYTCNV DHKPSNTKVKDRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITRE PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEK TISKAKGQPREPQVYTLPPS QEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPV LDDSGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSL G

5

10

15

20

59	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFI FSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT'TTVTVSSLGGGSGRTVAA PSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
60	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT'LVTVSSFNRRGESASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKT'TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPG
61	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFI FSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT'TTVTVSSVEPKSSRTVAA PSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

10

15

20

62	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLVTVSSFNREGESASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
63	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSVEPKSSRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
64	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLVTVSSFNREGESASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVP SSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVEPKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSL G

5

10

15

20

65	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGSRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSVEPKSSRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
66	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTTLVTVSSFNREGESASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTGPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITRE PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSL SLG
67	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGSRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSVEPKSSRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

10

15

20

68	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTITSSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFI FSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT'TVTVSSLGGGSGASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKT'TPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYT QKSLSLSPG
69	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSSVKVSKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLTVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
70	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTITSSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFI FSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT'TVTVSSLGGGSGASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGT'KTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKT'TPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNV FSCSV MHEALHNHYTQKS LSLSLG

5

10

15

20

71	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKCASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGTTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
72	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRLRLSCLASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRSEDTAVYYCARDRIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTLVTVSSLGGGSGASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGKTKYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL YITREPEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLG
73	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKCASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGTTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

10

15

20

74	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSFNRGESASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
75	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLQPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKCASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTLVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT LSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
76	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSFNRGESASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFCFSVMHEALHNHYTQKS LSLSLG

5

77	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSCKASGYTFDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGGLVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
78	DIQMTQSPSSLSASVGDRTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSFNREGESASTKG PSVFPPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL YITREPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLG
79	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSCKASGYTFDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGGLVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

10

15

20

5

10

15

20

80	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKKASGYTFDDQTIHWMRQAPGGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLLVTVSSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
81	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSTRFS GSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSRLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSSLGGGSGRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
82	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKKASGYTFDDQTIHWMRQAPGGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLLVTVSSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG

5

10

15

20

83	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTITSSLPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSLGGGSGRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
84	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGLTVTVSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSL G
85	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTITSSLPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSLGGGSGRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

5

10

15

20

86	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKKASGYTFDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGTLVTVSSLGSGSGASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITRE PEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSL G
87	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGSRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSLGSGSGRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
88	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKKASGYTFDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGTLVTVSSFNRGESASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG

5

89	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTITSSLPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFI FSSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT'TVTVSSVEPKSSRTVAA PSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
----	--

10

90	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKCASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGT'LVTVSSFNRRGESASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYK'TTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLS LSPG
----	--

15

91	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTITSSLPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFI FSSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGT'TVTVSSVEPKSSRTVAA PSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
----	--

20

5

10

15

20

92	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKKASGYTFDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTTLVTVSSFNRRGESASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSL G
93	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGSRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSVEPKSSRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
94	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKKASGYTFDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTTLVTVSSFNRRGESASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKITYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITRE PEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVTLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSL G

5

95	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRLRLSCLASGFISSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSVEPKSSRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTLS SSTLTLSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
----	--

10

96	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRLRLSCLASGFISSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSLGGGSGASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGLVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTPVSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLNISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
----	---

15

97	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRTGIPARFS GSGSGTDFLTISLQPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTITVTVSSLGGGSGRTVAAPSVEFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTLSSTLT LSKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
----	---

20

5

10

15

20

98	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSSLGGGSGASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
99	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNATGIPARFS GSGSGDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGTLTVTVSSSLGGGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
100	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSSLGGGSGASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLG

5

10

15

20

101	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLVTVSSLGGGSGRRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
102	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGSRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSLGGGSGASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGKTKYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL YITREPEVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMHEALHNHYTQKS LSLSLG
103	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSELPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLVTVSSLGGGSGRRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

10

15

20

104	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSFNREGESASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG
105	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTLLTVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYSLSSLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
106	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSFNREGESASTKG PSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPK DTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQ DWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYP SDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYT QKSLSLSPG

5

10

15

20

107	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTLVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
108	DIQMTQSPSSLSASVGRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSFNREGESASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL MISRTPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYCKKVS NKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKS LSLSLG
109	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVYSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWQGTLVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

10

15

20

110	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGDGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSFNRGESASTKG PSVFPLAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSV VTVPSSSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTL YITREPEVTCVVVDVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWL NGKEYKCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI AVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKS LSLSLG
111	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKCASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDFAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
112	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTISLLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSKCASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDFAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLVTVSSSLGGSGASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLS LSPG

5

10

15

20

113	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTITSSLPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFISSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTITVTVSSLGGGSGRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
114	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTITSSLPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTITVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSL SPG
115	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTITSSLPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGGEVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVTEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTITVTVSSLGGGSGRTVAAPSFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5	116	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIISSLPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTF EVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGL
	117	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTIISSLPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPG RSLRLSCAASGFTTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSV EGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGT LVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVC LLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDS TYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
	118	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIISSLPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGTKTYTCNV DHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREP EVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGL

5

10

15

20

119	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTIISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
120	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGDFTLTIISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTTLVTVSSFNREGESASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVVFSCSVMEALHNHYTQKSLSL SPG
121	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRDFTLTIISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTTLVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

5	122	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPSSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTTLVTVSSFNREGESASTKGPSVFPL APSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGK EYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSL SPG
10	123	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISSSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGSRSLRLSCAASGFTTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVETRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYSYSTASSLDYWGQGTTLVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNREGC
15	124	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPSSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTTLVTVSSFNREGESASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGKTKTYTCNVNHHKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTP EVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCVMHEALHNHYTQKSLSLSLGLG
20		

5

10

15

20

125	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLLTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
126	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPSSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLLTVSSFNRGESASTKGPSVFPL APCSRSTSESTAALGLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSS SLGTKTYTCNVDHKPSNTKVDKRVESKYGPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITREP EVTCVVVDVSDQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYK CKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYITLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWES NGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLGLG
127	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGRLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLLTVSSVEPKSSRTVAAPSVFI FPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKSTYLSSTLT LSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

10

15

20

128	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTIISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTILVTVSSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPEAAGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
129	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTIISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTILVTVSSSLGGGSGRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
130	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTIISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTILVTVSSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG

5

10

15

20

131	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSCKASGYTFDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC
132	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGSRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKLEWVSAITWNSGHIDYADSVETRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQTLVTVSSLGGGSGASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKTYTCNVDHKPSNTKVKRVERESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVVDVSDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVSVLTVQLHQLDNLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSL SL
133	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSCKASGYTFDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGTLVTVSSLGGGSGRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSPVTKSFNRGEC

5	134	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTITSSLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWWSAITWNSGHIDYADSVETRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSSTASSLDYWGQGTLVTVSSSLGGSGASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTGPS SSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITRE PEVTCVVDVDSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTIKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSL G
10	135	DIQMTQSPSSLSASVGDRTTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTITSSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKEIKGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGGGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLVTVSSSLGGSGGRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLTTL SKADYEEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
15	136	EIVLTQSPATLSLSPGERATLSCRASQSVSYLAWYQQKPGQAPRLLIYDASNRATGIPARFS GSGSGTDFTLTITSSLEPEDFAVYYCQQRSNWPPFTFGPGTKVDIKGGSGGGGQVQLVQSGAE VKKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGGGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITAD KSTSTAYMELSSLRSEDVAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQTLVTVSSSLGGSGASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTGPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVKPKCDKTHTCPPELGGPSVFLFPPKPKDTLMIT SRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVMEALHNHYTQKSLS LSPG

5

10

15

20

137	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGQVQLVESGGGV VQPGRSLRLSCAASGFIFSSYAMHWVRQAPGNGLEWVAFMSYDGSNKKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARDRGIAAGGNYYYYGMDVWGQGTTVTVSSSLGGGSGRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSL SSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
138	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVVEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGLTVTVSSFNREGESASTKGPSVFP LAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMI SRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNG KEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAV EWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLS LSPG
139	DIQMTQSPSSLSASVGDRVITITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGQGTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSKASGYTFDQTIHWMRQAPGGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGGQGLTVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSSTLTLS SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

5

10

15

20

140	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTITISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSFNRGESASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVERESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRT PEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSL G
141	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASLTQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTITISLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGGQTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSCKASGYTFDTQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVCLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDSSTYSLSSTLT SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
142	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCKASRDVAIAVAWYQQKPGKVPKLLIYWASTRHTGVPSRFS GSGSRTDFTLTITISLQPEDVADYFCHQYSSYPFTFGSGTKLEIKGGGSGGGGEVQLVESGGGL VQPGRSLRLSCAASGFTFDDYAMHWVRQAPGKGLEWVSAITWNSGHIDYADSVEGRFTISRDN AKNSLYLQMNSLRAEDTAVYYCAKVSYLSTASSLDYWGQGTLVTVSSFNRGESASTKGPSVFP LAPCSRSTSESTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPS SSLGTKTYTCNVDPKPSNTKVDKRVERESKYGPPCPPCPAPEFLGGPSVFLFPPKPKDTLYITRE PEVTCVVDVVSQEDPEVQFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQFNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEY KCKVSNKGLPSSIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSQEEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWE SNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSRLTVDKSRWQEGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSL G

5

10

15

20

143	DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQGIRNYLAWYQQKPGKAPKLLIYAASTLQSGVPSRFS GSGSGTDFTLTISSSLQPEDVATYYCQRYNRAPYTFGGQTKVEIKGGGSGGGGQVQLVQSGAEV KKPGSSVKVSCKASGYTFTDQTIHWMRQAPGQGLEWIGYIYPRDDSPKYNENFKGKVTITADK STSTAYMELSSLRSEDTAVYYCAIPDRSGYAWFIYWGQGTLLVTVSSVEPKSSRTVAAPSVFIF PPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTEQDSKDYSLSSLTTL SKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC
144	MSTESMIRDVELAEELPKKTGGPQGSRRCLFLSLFSFLIVAGATTFLCLLHFGVIGPQREEF PRDLSLISPLAQAVRSSRTPSDKPVAVVAVNPQAEGLQWLNRANALLANGVELRDNLV PSEGLYLIYSQVLFKGQGPCSTHVLTTHTISRIAVSYQTKVNLLSAIKSPCQRETPEGAEAKP WYEPHYLGGVFQLEKGDRLSAEINRPDYLDFAESGQVYFGIIAL
145	MLGSRVAMLLLLLPWTAQGRAVPGGSSPAWTQCQQLSQKLCTLAWSAHPLVGHMDLREEGDEE TTNDVPHIQCGDGCDFQGLRDNSQFCLQRIHQGLIFYEKLKLGSDIFTGEPSLLPDSPVQQLHA SLLGLSQLQPEGHHWETQQIPSLSPSQPWQRLRLRFKILRSLQAFVAVAAARVFAHGAATLSP
146	DYAMH
147	AITWNSGHIDYADSVGE
148	VSYLSTASSLDY
149	RASQGIRNYLA
150	AASTLQS
151	QRYNRAPYT
152	SYAMH
153	FMSYDGSNKKYADSVKG
154	NYYYYGMDV
155	RASQSVYSYLA
156	DASNRAT
157	QQRSNWPPFT
158	DQTIH
159	YIYPRDDSPKYNENFKG

160	PDRSGYAWFIY
161	KASRDVAIAVA
162	WASTRHT
163	HQYSSYPFT

5

OTRAS MODALIDADES

Todas las características descritas en la presente memoria descriptiva pueden combinarse en cualquier combinación. Cada característica descrita en la presente memoria descriptiva puede remplazarse con una característica alternativa que cumpla el mismo fin o un fin equivalente o similar. Por lo tanto, a menos que se indique expresamente lo contrario, cada característica descrita es únicamente un ejemplo de una serie genérica de características equivalentes o similares.

A partir de la descripción anterior, un experto en la técnica puede determinar fácilmente las características esenciales de la presente descripción y, sin apartarse del espíritu y alcance de esta, puede realizar diversos cambios y modificaciones en la descripción para adaptarla a diversos usos y condiciones. Por lo tanto, otras modalidades también se encuentran dentro de las reivindicaciones.

25