

ANTICUERPOS BIESPECÍFICOS CONTRA CALICREÍNA Y FACTOR XII DEL
PLASMA

REFERENCIA CRUZADA A SOLICITUDES RELACIONADAS

5 Esta solicitud reclama el beneficio de las fechas de la
Solicitud Provisional de los Estados Unidos con No.
62/099,236, presentada el 2 de Enero del 2015, Solicitud
Provisional de los Estados Unidos con No. 62/200,363,
presentada el 3 de Agosto del 2015, y Solicitud Provisional
10 de los Estados Unidos con No. 62/261,609, presentada el 1 de
Diciembre del 2015. Todos los contenidos de estas solicitudes
referenciadas se incorporan en la presente a manera de
referencia.

15 **ANTECEDENTES DE LA INVENCION**

El Factor XII (FXII) es el principal activador que convierte
pre-caliceína en caliceína del plasma (pKal, por sus siglas
en inglés). La caliceína del plasma escinde cininógeno de
alto peso molecular (HMWK, por sus siglas en inglés) para
20 liberar bradiquinina (BK, por sus siglas en inglés). La pKal
también puede activar el Factor XII latente en Factor XII
activo (Factor XIIa). En estados de enfermedad relacionados
con la activación aberrante del sistema de contacto, tal como
Angioedema hereditaria, niveles no controlados de BK puede

inducir ataques en paciente.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LA INVENCIÓN

Un aspecto de la presente descripción es un anticuerpo
5 biespecífico, que comprende: un primer polipéptido que
comprende una cadena ligera de un primer anticuerpo, la
cadena ligera que comprende una región variable de cadena
ligera (V_L) y una región constante de cadena ligera (C_L) (*por*
ejemplo, una cadena ligera kappa o cadena ligera lambda); y
10 un segundo polipéptido que comprende una cadena pesada del
primer anticuerpo, la cadena pesada que comprende una región
variable de cadena pesada (V_H) y una región constante de
cadena pesada (C_H). Ya sea el primer polipéptido o el segundo
polipéptido del anticuerpo biespecífico además comprende un
15 segundo anticuerpo, el cual es un anticuerpo de una sola
cadena y se puede fusionar a la terminal C ya sea del primer
polipéptido o el segundo polipéptido. Uno de los primeros y
segundos anticuerpos se une a calicreína del plasma (pKal)
(*por ejemplo*, pKal activa) y el otro anticuerpo se une a
20 Factor XII (*por ejemplo*, Factor XII activo o FXIIa), por
ejemplo, el primer anticuerpo une pKal y el segundo
anticuerpo une FXIIa o *vice versa*.

En algunas modalidades, el primer anticuerpo es una IgG.
En un ejemplo, la IgG comprende una cadena pesada mutada,

que, en comparación con la contraparte de tipo natural, tiene el residuo de lisina de terminal C eliminado o mutado. Por ejemplo, la cadena pesada mutada del primer anticuerpo puede contener un residuo de glicina de terminal C, en lugar de un
5 residuo de lisina como en una cadena pesada de IgG de tipo natural. En un ejemplo, el anticuerpo biespecífico puede ser tetravalente.

En algunas modalidades, el segundo polipéptido en el anticuerpo biespecífico comprende un ligador péptido entre la
10 cadena pesada del primer anticuerpo y el segundo anticuerpo. En un ejemplo, el ligador péptido puede ser SGGGS (SEQ ID NO:22).

En el segundo anticuerpo, el cual es un anticuerpo de scFv, la V_H se puede fusionar a la terminal N de la V_L . De
15 manera alternativa, la V_H se fusiona a la terminal C de la V_L . En algunos ejemplos, el segundo anticuerpo comprende un ligador péptido entre las regiones V_H y V_L , *por ejemplo*, un ligador de $(G_4S)_4$ (SEQ ID NO:23). En algunas modalidades, el anticuerpo de scFv comprende una unión de disulfuro formada
20 entre las cadenas V_H y V_L . Por ejemplo, la cadena V_H puede contener un residuo de cisteína en la posición 44 (C44) y la cadena V_L puede contener un residuo de cisteína en la posición 100, en donde unión de disulfuro se puede formar entre C_{44} en la V_H y C_{100} en la V_L . En algunos ejemplos, el

segundo anticuerpo no contiene un motivo KR en su terminal C.

En cualquiera de los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente, la V_H del primer anticuerpo tiene las mismas regiones que determinan la complementariedad (CDRs, por sus siglas en inglés) como aquellas en SEQ ID NO:1. En algunos ejemplos, la V_H del primer anticuerpo comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:1. En un ejemplo, la cadena pesada del primer anticuerpo comprende la secuencia de aminoácido de residuos 20-470 de la SEQ ID NO: 9. En un ejemplo, la cadena pesada del primer anticuerpo comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO; 9, 149, o 150. De manera alternativa o además, la V_L del primer anticuerpo tiene las mismas CDRs como aquellas en SEQ ID NO:2. En algunos ejemplos, la V_L del primer anticuerpo comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:2.

Además, la V_H del segundo anticuerpo puede tener las mismas CDRs como aquellas en cualquiera de SEQ ID NOs:3, 4 y 123-126. En algún ejemplo, la V_H del segundo anticuerpo comprende cualquiera de las secuencias de aminoácido de SEQ ID NO:3, 4 y 123-126. De manera alternativa o además, la V_L del segundo anticuerpo tiene las mismas CDRs como aquellas en cualquiera de SEQ ID NOs:5-8 y 127-130. En algunos ejemplos, la V_L del segundo anticuerpo comprende residuos 1-111 de cualquiera de las secuencias de aminoácido de SEQ ID NOs:5-8

y 127 En un ejemplo, la VL del segundo anticuerpo comprende cualquiera de las secuencias de aminoácido de SEQ ID Nos: 5-8 y 127-130.

En algunos ejemplos, el anticuerpo biespecífico descrito en la presente comprende un primer polipéptido que comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:10 y el segundo polipéptido comprende cualquiera de las secuencias de aminoácido de SEQ ID NOS: 11-20, 47-122, 141-148, y 151-158.

En otro aspecto, la presente descripción proporciona un anticuerpo biespecífico, que comprende un primer anticuerpo que se une a calicreína del plasma (pKal) y un segundo anticuerpo que se une al Factor XII, por ejemplo, el primer anticuerpo que se une a pKal activa y/o el segundo anticuerpo que se liga al Factor XII activo (FXIIa). En algunas modalidades, el primer anticuerpo comprende una cadena V_H que comprende las mismas regiones determinantes de complementariedad (CDRs) como aquellas en SEQ ID NO:1, y/o una cadena V_L que comprende las mismas CDRs como aquellas en SEQ ID NO:2. Por ejemplo, la V_H del primer anticuerpo comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:1, y/o la V_L del primer anticuerpo comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:2.

De manera alternativa o además, el segundo anticuerpo comprende una cadena V_H que comprende las mismas CDRs como

aquellas en SEQ ID NO:3 o 4, y/o una cadena V_L que comprende las mismas CDRs como aquellas en SEQ ID NO:5, 6, 7 o 8. Por ejemplo, la cadena V_H del segundo anticuerpo comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:3 o 4; y/o la V_L del
5 segundo anticuerpo comprende la secuencia de aminoácido de SEQ ID NO:5, 6, 7 o 8.

De manera alternativa o además, el segundo anticuerpo comprende una cadena V_H que comprende las mismas CDRs como aquellas en cualquiera de SEQ ID NOs:123-126, y/o una cadena
10 V_L que comprende las mismas CDRs como aquellas en SEQ ID NOs:127. Por ejemplo, la cadena V_H del segundo anticuerpo comprende la secuencia de aminoácido de cualquiera de SEQ ID NO: 123-126; y/o la V_L del segundo anticuerpo comprende residuos 1-111 de cualquiera de la secuencia de aminoácido de
15 SEQ ID NO: 5-8 y 127.

Todavía en otro aspecto, la presente descripción proporciona un ácido nucleico aislado o conjunto de ácido nucleico, comprendiendo una primera secuencia de nucleótido que codifica un primer polipéptido o primer anticuerpo como
20 se describe en la presente y una segunda secuencia de nucleótido que codifica el segundo polipéptido o segundo anticuerpo como se describe en la presente. En algunas modalidades, la primera y segunda secuencias de nucleótido se ubican en dos moléculas de ácido nucleico separadas (*por*

ejemplo, dos vectores tales como vectores de expresión). De manera alternativa, la primera y segunda secuencias de nucleótido nucleico se ubican en una molécula de ácido nucleico (*por ejemplo*, un vector tal como un vector de expresión).

El ácido nucleico o el conjunto de ácido nucleico descrito en la presente puede ser un conjunto de vector que comprende un primer vector que comprende la primera secuencia de nucleótido y un segundo vector que comprende la segunda secuencia de nucleótido. En algunos ejemplos, el primer y segundo vectores son vectores de expresión, en donde la primera y segunda secuencias de nucleótido están en unión operable a un promotor. En otros ejemplos, el ácido nucleico descrito en la presente es un vector que comprende tanto la primera como la segunda secuencias de nucleótido. Cualquiera de los vectores descritos en la presente puede ser un vector de expresión. Por ejemplo, el vector de expresión puede comprender la primera y segunda secuencias de nucleótido que están en unión operable a un promotor. También dentro del alcance de esta descripción está una célula hospedera que comprende el vector o conjunto de vectores descrito en la presente

Además, la presente descripción proporciona composiciones que comprende cualquiera de los anticuerpos

biespecíficos o el ácido nucleico/conjuntos de ácido nucleico como se describe en la presente y un portador farmacéuticamente aceptable. Tal composición se puede usar para tratar una enfermedad asociada con el sistema de activación de contacto (*por ejemplo*, angioedema hereditario (AEH) o trombosis). El método de tratamiento descrito en la presente comprende administrar a un sujeto en necesidad del mismo una cantidad eficaz de la composición farmacéutica descrita en la presente. La presente descripción también proporciona una composición farmacéutica para usarse en el tratamiento de la enfermedad como se describe en la presente, en donde la composición farmacéutica comprende cualquiera del anticuerpo biespecífico descrito en la presente o un ácido nucleico/conjunto de ácido nucleico que codifica el anticuerpo biespecífico, y un portador farmacéuticamente aceptable, y el uso de tal composición farmacéutica en la fabricación de un medicamento para usarse en el tratamiento de tal enfermedad tal como HAE o trombosis. En algunas modalidades, la trombosis se asocia con fibrilación auricular, trombosis venosa profunda (DVT, por sus siglas en inglés), embolia pulmonar, apoplejía o un evento trombótico arterial o venoso.

Todavía en otro aspecto, la presente descripción presenta un método para preparar un anticuerpo biespecífico,

el método que comprende: (a) cultivar la célula hospedera o conjunto de célula hospedera como se describe en la presente bajo condiciones que permiten la expresión del primer polipéptido y el segundo polipéptido; y (b) aislar el anticuerpo biespecífico que comprende el primer polipéptido y el segundo polipéptido. En algunos ejemplos, la célula hospedera comprende un vector de expresión que comprende una primera secuencia de nucleótido que codifica un primer polipéptido y una segunda secuencia de nucleótido que codifica el segundo polipéptido.

Los detalles de una o más modalidades de la descripción se exponen en la descripción a continuación. Otras características o ventajas de la presente descripción serán aparentes de los siguientes dibujos y descripción detallada de varias modalidades y también de las reivindicaciones adjuntas.

BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS DIBUJOS

Los siguientes dibujos forman parte de la presente especificación y se incluyen para demostrar adicionalmente ciertos aspectos de la presente descripción, la cual se puede entender mejor a manera de referencia a uno o más dibujos en combinación con la descripción detallada de las modalidades específicas presentadas en la presente.

La FIGURA 1 es una gráfica que muestra la actividad de varios clones de anticuerpo biespecífico para inhibir pKal, incluyendo clones X120-A01 (scFv= 559C-M184-B04 H4L), X121-E01 (scFv= 559C-M184-G03 H4L), X122-A01 (scFv= 559C-M71-F06 H4L), y X122-C01 (scFv= 559C-M71-F06 L4H).

Las FIGURAS 2A, 2B, 2C, 2D, 2E y 2F incluyen gráficas que muestran la actividad de inhibición de FXIIa de clones X120-A01 (FIGURA 2A y FIGURA 2B), X122-A01 (FIGURA 2C), X121-E01 (FIGURA 2D), X122-C01 (FIGURA 2E), y clon de control M71-F06 IgG (FIGURA 2F).

Las FIGURAS 3A, 3B, 3C, 3D y 3E incluyen gráficas que muestran los trazos analíticos de cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) de 5 moléculas biespecíficas ejemplares. El pico frontal muestra que estos clones tienen un agregado de alto peso molecular, que varía de % de HMW 16.5-33.8. FIGURA 3A: 620I-X136-C11. FIGURA 3B: 620I-X136-C05. FIGURA 3C: 620I-X136-G05. FIGURA 3D: 620I-X136-D12. FIGURA 3E: 620I-X136-A01.

Las FIGURAS 4A, 4B, 4C y 4D incluyen gráficas que muestran reducción de agregado de alto peso molecular para 620I-X0173-A11 (620I-X0136-D12 con unión de disulfuro modificado por H44/L100) a través de un intervalo de concentraciones. FIGURA 4A: 620I-X0173-A11 a 1mg/mL. FIGURA 4B: 620I-X0173-A11 a 10 mg/mL. FIGURA 4C: 620I-X0173-A11 a 20 mg/ml. FIGURA 4D: 620I-X0173-A11 a 45 mg/ml.

Las FIGURAS 5A, 5B, 5C y 5D incluyen gráficas que muestran la actividad inhibitoria de un anticuerpo anti-pKal, un anticuerpo anti-FXIIa, una combinación del anticuerpo anti-pKal y el anticuerpo anti-FXIIa, y el anticuerpo 5 biespecífico D12, como se determina por un ensayo de plasmas reconstituido. FIGURA 5A: DX-2930 en la presencia de HMWK de una sola cadena. FIGURA 5B: anticuerpo anti-FXIIa en la presencia de HMWK de una sola cadena. FIGURA 5C: DX-2930+ anti-FXIIa en la presencia de HMWK de una sola cadena. FIGURA 10 5D: clon biespecífico 620I-X0136-D12 en la presencia de HMWK de una sola cadena.

Las FIGURAS 6A, 6B, 6C y 6D incluyen gráficas que muestran las actividades inhibitorias de un anticuerpo anti-pKal, un anticuerpo anti-FXIIa, una combinación del anticuerpo anti-pKal y el anticuerpo anti-FXIIa, y el anticuerpo biespecífico D12, como se determina por un ensayo 15 de plasma reconstituido. FIGURA 6A: DX-2930 en la ausencia de HMWK. FIGURA 6B: anticuerpo anti-FXIIa en la ausencia de HMWK. FIGURA 6C: DX-2930+ anti-FXIIa en la ausencia de HMWK. FIGURA 20 6D: clon biespecífico 620I-X0136-D12 en la ausencia de HMWK.

La FIGURA 7 incluye gráficas que muestran las actividades inhibitorias de un anticuerpo anti-pKal, un anticuerpo anti-FXIIa, una combinación del anticuerpo anti-

pKal y el anticuerpo anti-FXIIa, y el anticuerpo biespecífico D12, como se determina por un ensayo de plasma. A: DX-2930 en la ausencia de HMWK. B: anticuerpo anti-FXIIa en la ausencia de HMWK. C: DX-2930+ anti-FXIIa en la ausencia de HMWK. D: 5 clon biespecífico D12 en la ausencia de HMWK.

La FIGURA 8 es una gráfica que muestra los efectos de un anticuerpo biespecífico (D12) a tres concentraciones en comparación a un anticuerpo anti-FXIIa (D06) y un anticuerpo anti-pKal (H03) en un ensayo de tiempo de tromboplastina 10 parcial activado (APTT).

Las FIGURAS 9A y 9B incluyen gráficas que muestran unión biacore de 620I-X0173-A11 (620I-X0136-D12 con disulfuros) contra pKal (Sensograma superior) y FXIIa (sensograma inferior). FIGURA 9A: unión de pKal (curva superior) es mayor 15 que la superficie en blanco (en medio) y pre-calicleína (inferior). Aislamientos de FXIIa mostraron unión no específica al chip biacore, el cual explica que las señales de unión vistas para pre-Kal y espacios en blanco. FIGURA 9B: la unión de FXIIa (curva superior) es demostrablemente más 20 alta que FXII (inferior) y espacio en blanco (en medio).

Las FIGURAS 10A, 10B, 10C, 10D, 10E y 10F incluyen gráficas que muestran IC_{50} y K_i , cálculos aparentes de 3 anticuerpos biespecíficos limitados por disulfuro en Ensayo de Inhibición de Plasma. FIGURA 10A y FIGURA 10B: clon 620I-

X0173-A11. FIGURA 10C y FIGURA 10D: clon 620I-X0173-C07.
FIGURA 10E y FIGURA 10F: clon 620I-X0173-G11.

La FIGURA 11 es una gráfica que muestra las características inhibitorias del anticuerpo biespecífico
5 620I-X0177-A01 (mejor conocido 620I-X0173-A11) como se determina en el Ensayo de Inhibición de Plasma.

Las FIGURAS 12A y 12B incluyen gráficas que muestran que hay caídas en afinidad entre las IgGs principales y los anticuerpos biespecíficos. FIGURA 12A: características de
10 unión del clon principal 559C-X0211-A01 (panel izquierdo) y anticuerpo biespecífico 620I-X0177-A01 (panel derecho). FIGURA 12B: características de unión del clon principal DX-2930 (panel izquierdo) y anticuerpo biespecífico A01 (panel derecho).

15 La FIGURA 13 es una gráfica que muestra demora dependiente de dosis APTT por varios anticuerpos como se indica. Los clones D06, 1A01 y F12 son anticuerpos anti-FXIIa. El clon H03 es un anticuerpo anti-pKal. Los clones D12 y 7A01 son anticuerpos biespecíficos sin y con unión de
20 disulfuro, respectivamente.

La FIGURA 14 es una gráfica que muestra demora dependiente de dosis por clones 1A01 (559C-X211-A01) y 7A01 (620I-X0177-A01).

La FIGURA 15 es un gel de proteína SDS-PAGE que muestra

muestras del anticuerpo biespecífico 620I-X0177-A01 bajo condiciones reducidas (filas 2-4) y condiciones no reducidas (filas 6-8).

Las FIGURAS 16A, 16B y 16C incluyen gráficas que muestran los trazos analíticos de cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) del anticuerpo biespecífico 620I-X0177-A01 que demuestran un escisión dependiente de pH. Los picos entre 15.7-16.1 minutos representan el anticuerpo biespecífico correctamente formado. Los picos a 17 minutos representan DX-2930 IgG1. Los picos a 22 minutos representan el anticuerpo de cadena ligera escindida. FIGURA 16A: pH 6.0. FIGURA 16B: pH 7.0. FIGURA 16C: 8.0.

Las FIGURAS 17A y 17B incluyen geles de proteína SDS-PAGE de los anticuerpos biespecíficos indicados, los cuales se modifican para ya sea mutar o eliminar la lisina de terminal C de IgG a t=0. FIGURA 17A: condiciones no reducidas. FIGURA 17B: condiciones reducidas.

La FIGURA 18 muestra un gel de proteína SDS-PAGE que incluye los anticuerpos biespecíficos indicados modificados para ya sea mutar o eliminar la lisina de terminal C de IgG a t=48 hr bajo condiciones reducidas. El control positivo es anticuerpo biespecífico 620I-X0177-A01.

Las FIGURAS 19A y 19B incluyen gráficas que muestran los trazos analíticos de cromatografía de exclusión de tamaño

(SEC) de anticuerpo biespecífico de control 620I-X0177-A01. Los picos entre 15.7-16.1 minutos representan el anticuerpo biespecífico correctamente formado. Los picos a 17 minutos representan DX-2930 IgG1. Los picos a 22 minutos representan el anticuerpo de una sola cadena escindido. FIGURA 19A: t=0. FIGURA 19B: t=48 hrs.

Las FIGURAS 20A, 20B, 20C, 20D, 20E, 20F, 20G y 20H incluyen gráficas que muestran los trazos analíticos de cromatografía de exclusión de tamaño (SEC) de anticuerpos biespecíficos re-modificados después de 48 horas a temperatura ambiente a pH = 7.5. FIGURA 20A: 620I-X180-E07. FIGURA 20B: 620I-X180-G03. FIGURA 20C: 620I-X180-A05. FIGURA 20D: 620I-X180-E06. FIGURA 20E: 620I-X180-C11. FIGURA 20F: 620I-X179-C01. FIGURA 20G: 620I-X179-G05. FIGURA 20H: 620I-X179-A09.

La FIGURA 21 muestra un gel de proteína SDS-PAGE que muestra los anticuerpos biespecíficos indicados modificados para ya sea mutar o eliminar la lisina de terminal C IgG de cadena pesada bajo condiciones no reducidas. El control positivo es 620I-X0177-A01. Las muestras se incubaron con Endoproteinasa Lys C a 37°C durante 1 hora.

La FIGURA 22 incluye gráficas que muestran inhibición de pKal mediante anticuerpos biespecíficos ejemplares. La placa 1 muestra características de inhibición de anticuerpos

biespecíficos 620I-X0179-A09 (círculos abiertos), 620I-X0179-C01 (triángulos cerrados), y 620I-X0179-E05 (triángulos abiertos). La placa 2 muestra las características de inhibición de anticuerpos biespecíficos 620I-X0179-G05
5 (círculos abiertos), 620I-X0180-E07 (triángulos cerrados), y 620I-X0180-G03 (triángulos abiertos). La placa 3 muestra las características de inhibición de anticuerpos biespecíficos 620I-X0180-A05 (círculos abiertos) y 620I-X0180-C11 (triángulos cerrados). El anticuerpo DX-2930 se usó como un
10 control en cada una de las placas.

La FIGURA 23 incluye gráficas que muestran inhibición de FXIIa mediante anticuerpos biespecíficos ejemplares. La placa 1 muestra características de inhibición de anticuerpos biespecíficos 620I-X0179-A09 (círculos abiertos), 620I-X0179-C01 (triángulos cerrados), y 620I-X0179-E05 (triángulos
15 abiertos). La placa 2 muestra características de inhibición de anticuerpos biespecíficos 620I-X0179-G05 (círculos abiertos), 620I-X0180-E07 (triángulos cerrados), y 620I-X0180-G03 (triángulos abiertos). La placa 3 muestra
20 características de inhibición de anticuerpos biespecíficos 620I-X0180-A05 (círculos abiertos) y 620I-X0180-C11 (triángulos cerrados). El anticuerpo DX-4012 (559C-M0192-H11) se usó como un control en cada una de las placas.

La FIGURA 24 incluye gráficas que muestran inhibición de

plasma activado mediante anticuerpos biespecíficos ejemplares. El panel izquierdo superior muestra características de inhibición de DX-2930 de placas de control 1, 2, y 3 y DX-4012. El panel derecho superior muestra
5 características de inhibición de anticuerpos biespecíficos 620I-X0179-A09 (círculos cerrados), 620I-X0179-C01 (círculos abiertos). El panel izquierdo inferior muestra características de inhibición de anticuerpos biespecíficos 620I-X0179-E05 (círculos cerrados), 620I-X0179-G05 (círculos
10 abiertos), y 620I-X0180-E07 (triángulos cerrados). El panel derecho inferior muestra características de inhibición de anticuerpos biespecíficos 620I-X0180-G03 (círculos cerrados), 620I-X0180-A05 (círculos abiertos) y 620I-X0180-C11 (triángulos cerrados).

15

DESCRIPCIÓN DETALLADA DE LA INVENCION

El sistema de activación de contacto inicia la vía intrínseca de coagulación a través de la liberación de la bradiquinina de péptido pro-inflamatorio (BK). La liberación de BK se
20 facilita mediante una serie de etapas de activación de enzima en el sistema de activación de contacto. El Factor XIIa (FXIIa) convierte pre-calicleína a calicleína del plasma (pKal). Después, la pKal activada escinde cininógeno de alto peso molecular (HMWK) para liberar bradiquinina (BK). De

manera importante, pKal también puede activar el Factor XII latente para producir Factor XIIa activo adicional. Se cree que se forma un bucle de retroalimentación positivo, con pKal activando FXII a FXIIa y FXIIa activando pre-calicreína a pKal.

En enfermedades asociadas con el sistema de activación de contacto, tal como angioedema hereditario (AEH) o trombosis, niveles no controlados de BK pueden inducir las respuestas inflamatorias, como los ataques de HAE en pacientes. En consecuencia, los agentes para controlar los niveles de BK, *por ejemplo*, inhibidores de pKal y FXII, pueden tener valor terapéutico importante.

En la presente se describen anticuerpos biespecíficos que se unen tanto a pKal como FXII, *por ejemplo*, pKal y/o FXIIa activo, y usos de los mismos en la inhibición tanto de pKal como FXII y tratando enfermedades asociadas con el sistema de activación de contacto, tal como angioedema hereditario (HAE) y trombosis. Como se muestra en los Ejemplos más adelante, un número de anticuerpos biespecíficos ejemplares como se describen en la presente se mostraron que inhiben actividades tanto de pKal como de FXIIa. Sin querer estar atado por la teoría, los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente se espera que exhiban efectos terapéuticos superiores en el tratamiento de enfermedades

asociadas con el sistema de activación de contacto, en comparación con agentes que pueden inhibir ya sea pKal o FXII, debido a que los anticuerpos biespecíficos pueden inhibir la actividad tanto de pKal como FXII, reduciendo así los niveles BK sinérgicamente a través, *por ejemplo*, del bloqueo del bucle de retroalimentación positivo entre pKal y FXII.

Anticuerpos biespecíficos que se unen a pKal y FXII

Como se usa en la presente, un anticuerpo (usado de manera intercambiable en forma plural) es una molécula de inmunoglobulina, o un fragmento funcional del mismo, que es capaz de unirse a un antígeno objetivo, tal como un carbohidrato, polinucleótido, lípido o polipéptido, a través de al menos un sitio de reconocimiento de antígeno ubicado en la región variable de la molécula de inmunoglobulina. Un anticuerpo multiespecífico, *por ejemplo*, un anticuerpo biespecífico, es una molécula de inmunoglobulina o un fragmento funcional/variantes del mismo, que es capaz de unirse a múltiples antígenos objetivo, *por ejemplo*, dos antígenos o dos epítomos de un antígeno. Los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente se pueden unir tanto a calicreína del plasma (pKal) como Factor XII. En algunas modalidades, los anticuerpos biespecíficos se pueden unir a e inhibir tanto pKal como FXIIa activo.

El antígeno, como se usa en la presente, se refiere a cualquier molécula (*por ejemplo*, proteína, ácido nucleico, polisacárido, o lípido) que tiene la habilidad para generar anticuerpos. Un epítipo es una porción de un antígeno (*por*
5 *ejemplo*, una porción de pKal o FXII) a la cual un anticuerpo se une. Los epítipos consisten usualmente de grupos de superficie químicamente activos (tales como polar, no polar o hidrofóbicos) de porciones tales como cadenas laterales de aminoácidos o polisacáridos y pueden tener características
10 estructurales tridimensionales específicas, como también características de carga específicas. Un epítipo puede ser lineal en naturaleza o puede ser un epítipo discontinuo, *por ejemplo*, un epítipo conformacional, que se forma por una relación espacial entre aminoácidos no contiguos de un
15 antígeno en lugar de una serie lineal de aminoácidos. Un epítipo conformacional incluye epítipos que resultan de un pliegue de un antígeno, donde los aminoácidos de porciones diferentes de la secuencia lineal del antígeno están en estrecha proximidad en espacio tridimensional.

20 El anticuerpo biespecífico descrito en la presente comprende dos porciones de anticuerpo, una primera porción de anticuerpo que se une a pKal (*por ejemplo*, pKal activa) y una segunda porción de anticuerpo que se une a FXII (*por ejemplo*, FXIIa). La primera y segunda porciones de anticuerpos pueden

derivar de dos anticuerpos principales capaces de unirse a los antígenos deseados, *es decir*, pKal (*por ejemplo*, pKal activa) y FXII (*por ejemplo*, FXIIa). Uno o ambos de los anticuerpos principales para diseñar los anticuerpos

5 bienespecíficos como se describen en la presente pueden ser anticuerpos que ocurren naturalmente (*por ejemplo*, un anticuerpo derivado de un donador adecuado tal como humano, ratón, rata, conejo, caballo u oveja), anticuerpos genéticamente diseñados (*por ejemplo*, anticuerpos

10 humanizados, anticuerpos quiméricos), o anticuerpos derivados de una biblioteca de anticuerpos natural o sintética. En algunas modalidades, un anticuerpo principal es un anticuerpo IgG, *por ejemplo*, un anticuerpo IgG que se une a pKal tal como DX-2930 o un anticuerpo IgG que se une a FXIIa, y el

15 otro anticuerpo principal es un anticuerpo de scFv, *por ejemplo*, un anticuerpo de scFv que se une a FXIIa tal como clones anti-FXIIa descritos en la presente o un anticuerpo de scFv que se une a pKal.

La cadena pesada de una molécula IgG que ocurre

20 naturalmente contiene típicamente un residuo de lisina en la terminal C. En algunas modalidades, este residuo de lisina de terminal C se puede ya sea eliminar o mutar, *por ejemplo*, a un residuo de glicina, en los anticuerpos bienespecíficos descritos en la presente. De manera alternativa o además, el

motivo KR, que típicamente se presenta en la unión de una región variable de cadena ligera y una región constante de cadena ligera, se puede eliminar de la cadena ligera del primer anticuerpo, el segundo anticuerpo, o ambos, en los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente. En algunos ejemplos, el motivo KR se elimina de la porción scFv (*por ejemplo*, en la terminal C del scFv) de cualquiera de los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente. Estas mutaciones pueden reducir escisión proteolítica y/o mejorar la expresión, producción y/o fabricación del anticuerpo biespecífico.

En algunos ejemplos, al menos un anticuerpo principal puede ser un anticuerpo madurado por afinidad, el cual se refiere a un anticuerpo que tiene una o más modificaciones en una o más CDRs o regiones variables (FRs) en comparación al anticuerpo principal no modificado, llevando a un mejoramiento en la afinidad del anticuerpo para el antígeno objetivo. Los anticuerpos madurados por afinidad preferidos pueden tener afinidades nanomolares o incluso picomolares para el antígeno objetivo. La maduración por afinidad de un anticuerpo se puede llevar a cabo mediante varios métodos conocidos en la técnica, incluyendo por mezcla de dominio variable (ver, *por ejemplo*, Marks y colaboradores 1992, Bio/Technology 10:779-783), mutagénesis aleatoria de residuos

de CDR y/o FR (ver, *por ejemplo*, Barbas y colaboradores, 1994, Proc Nat. Acad. Sci, USA 91:3809-3813; Schier y colaboradores, 1995, Gene 169:147-155; Yelton y colaboradores, 1995, J. Immunol. 155:1994-2004; Jackson y
 5 colaboradores, 1995, J. Immunol. 154(7):3310-9; y Hawkins et al, 1992, J. Mol. Biol. 226:889-896). Los anticuerpos principales pueden ser de cualquier clase, tal como IgD, IgE, IgG, IgA, o IgM, o una sub-clase de los mismos o un anticuerpo de una sola cadena, tal como un scFv.

10 Cada porción de anticuerpo en el anticuerpo biespecífico como se describe en la presente puede ser un anticuerpo en cualquier forma, incluyendo, pero no se limita a, anticuerpos (*es decir*, longitud completa) intactos, fragmentos de
 15 ligación a antígeno del mismo (tal como Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), anticuerpos de una sola cadena (anticuerpos scFv) y anticuerpos tetravalentes. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico es tetravalente, que comprende dos sitios de unión para pKal y dos sitios de unión para FXII.

En algunas modalidades, la porción anti-pKal, la porción
 20 anti-FXII, o ambos en los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente se unen específicamente al antígeno objetivo correspondiente o un epítipo del mismo. Un anticuerpo que "se une específicamente" a un antígeno o un epítipo es un término muy bien conocido en la técnica, y métodos para determinar

tal unión específica también son muy bien conocidos en la técnica. Se dice que una molécula exhibe "unión específica" si reacciona o se asocia más frecuentemente, más rápidamente, con mayor duración y/o con mayor afinidad con un antígeno objetivo particular que con objetivos alternativos. Un anticuerpo "se une específicamente" a un antígeno objetivo o epítopo si se une con mayor afinidad, avidez, más fácilmente, y/o con mayor duración que como se une a otras sustancias. Por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente (o de manera preferencial) a un antígeno (*por ejemplo*, pKal o FXII humano) o un epítopo antigénico del mismo es un anticuerpo que se une a este antígeno objetivo con mayor afinidad, avidez, más fácilmente, y/o con mayor duración que con otros antígenos u otros epítopos en el mismo antígeno. También se entiende al leer esta definición que, por ejemplo, un anticuerpo que se une específicamente a un primer antígeno objetivo puede o no unirse específica o preferencialmente a un segundo antígeno objetivo. Como tal, "unión específica" o "unión preferencial" no necesariamente requiere (aunque puede incluir) unión exclusiva. De manera general, pero no necesariamente, la referencia a unión quiere decir unión preferencial. En algunos ejemplos, un anticuerpo que "se une específicamente" a un antígeno objetivo o un epítopo del mismo puede no unirse a otros antígenos u otros epítopos en

el mismo antígeno. En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico descrito en la presente se une específicamente tanto a pKal activa como FXIIa.

En algunas modalidades, un anticuerpo biespecífico como se describe en la presente tiene una afinidad de unión adecuada para uno o ambos de los antígenos objetivo (*por ejemplo*, pKal o FXIIa) o epítomos antigénicos del mismo. Como se usa en la presente, la "afinidad de unión" se refiere a la constante asociación aparente o K_A . La K_A es el recíproco de la constante de disociación (K_D). El anticuerpo biespecífico descrito en la presente tiene una afinidad de unión (K_D) de al menos 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} , 10^{-10} M, o inferior para uno o ambos de los antígenos objetivo o epítomos antigénicos. Un aumento de afinidad de unión corresponde a una disminución de K_D . Una mayor afinidad de unión de un anticuerpo para un primer antígeno y un segundo antígeno con relación a un tercer antígeno se puede indicar por un K_A más alto (o un valor numérico más pequeño K_D) para unirse al primer antígeno y un segundo antígeno que K_A (o valor numérico K_D) para unirse al tercer antígeno. En tal caso, el anticuerpo tiene especificidad para el primer antígeno y el segundo antígeno (por ejemplo, una primera proteína en una primera confirmación o mímica de la misma y una segunda proteína en una primera confirmación o mímica de la misma) con relación

al tercer antígeno (por ejemplo, la misma primera o segunda proteína en una segunda confirmación o mímica de la misma; o una tercera proteína). Las diferencias en afinidad de unión (por ejemplo, para la especificidad u otras comparaciones) pueden ser 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) se puede determinar mediante una variedad de métodos que incluyen diálisis de equilibrio, unión equilibrada, filtración en gel, ELISA, resonancia de plasmón superficial o espectroscopia (por ejemplo, usando un ensayo de fluorescencia). Las condiciones ejemplares para evaluar la afinidad de unión están en una solución amortiguadora HBS-P (10 mM HEPES pH7.4, 150 mM NaCl, 0.005% (v/v) Agente tensoactivo P20). Estas técnicas se pueden usar para medir la concentración de proteína de unión ligadas como una función de la concentración de proteína objetivo. La concentración de proteína de unión ligada ([Ligada]) se relaciona a la concentración de proteína objetivo libre ([Libre]) y la concentración de los sitios de unión para la proteína de unión en el objetivo donde (N) es el número de sitio de unión por molécula objetivo por la siguiente ecuación:

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

No siempre es necesario llevar a cabo una determinación

exacta de K_A , aunque, ya que algunas veces es suficiente obtener una medición cuantitativa de afinidad, por ejemplo, determinada usando un método tal como análisis ELISA o FACS, es proporcional a K_A , y por lo tanto se puede usar para comparaciones, tal como determinar si una mayor afinidad es, *por ejemplo*, 2-veces más alta, para obtener una medición cuantitativa de afinidad, o para obtener una interferencia de afinidad, por ejemplo, mediante la actividad en un ensayo funcional, *por ejemplo*, un ensayo in vitro o in vivo.

10 **(i) Porción Anti-pKal**

Cualquier anticuerpo capaz de unirse a pKal, tal como pKal activa, se puede usar para fabricar los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente. En algunos ejemplos, la porción de anticuerpo anti-pKal en el anticuerpo biespecífico se puede unir a pKal humano e inhibe su actividad por al menos 50% (por ejemplo, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o mayor). La constante inhibición (K_i) proporciona una medición de potencia inhibidora; es la concentración del inhibidor requerida para reducir la actividad enzimática a la mitad y no depende en la enzima o concentraciones de sustrato. La actividad inhibidora de una porción de anticuerpo anti-pKal en el anticuerpo biespecífico descrito en la presente se puede determinar mediante métodos rutinarios. En algunos ejemplos, el anticuerpo biespecífico

como se describe en la presente tiene un valor anti-pKal $K_{i,app}$ menor que 1 nM, *por ejemplo*, 0.5 nM, 0.2 nM, 0.1 nM, 0.09 nM, 0.08 nM, 0.07 nM, 0.06 nM, 0.05 nM, 0.04 nM, 0.03 nM, 0.02 nM, 0.01 nM o inferior. El valor $K_{i,app}$ de un anticuerpo se
 5 puede estimar siguiendo los métodos conocidos en la técnica.

En algunas modalidades, la porción anti-pKal del anticuerpo biespecífico puede interactuar con uno o más de los siguientes residuos: V410, L412, T413, A414, Q415, R416, L418, C419, H434, C435, F436, D437, G438, L439, W445, Y475,
 10 K476, V477, S478, E479, G480, D483, F524, E527, K528, Y552, D554, Y555, A564, D572, A573, C574, K575, G576, S578, T596, S597, W598, G599, E600, G601, C602, A603, R604, Q607, P608, G609, V610 y Y611 en pKal humano. La secuencia de aminoácido del fragmento terminal C de pKal humano que engloba los
 15 residuos de aminoácido involucrados (en negrita y subrayados) se muestran a continuación (SEQ ID NO:21):

```

391-IVGGTNSSWG EWPWQVSLQV KLTAQRHLCG GSLIGHQWVL TAAHCFDGLP
      LQDVWRIYSG ILNLSDITKD TPFSQIKEII IHQNYKVSEG NHDIALIKLQ
      APLNYTEFQK PISLPSKGDT STIYTNCWVT GWGFSKEKGE IQNILQKVNI
20    PLVTNEECQK RYQDYKITQR MVCAGYKEGG KDACKGDSGG PLVCKHNGMW
      RLVGITSWGE GCARREQPGV YTKVAEYMDW ILEKTQSSDG KAQMQSPA -638
  
```

En algunos ejemplos, la porción de anticuerpo anti-pKal se puede unir a un epítopo de la pKal, el epítopo que comprende uno de los siguientes segmentos en SEQ ID NO:21

mostrada anteriormente: V410-C419, H434-L439, Y475-G480, F524-K528, Y552-Y555, D572-S578, T596-R604 o Q607-Y611.

En un ejemplo, la porción anti-pKal del anticuerpo biespecífico descrito en la presente se deriva de un anticuerpo DX-2930, el cual se describe en US 20120201756 (incorporada en la presente a manera de referencia). La región variable de cadena pesada y región variable de cadena ligera de DX-2930, como también la cadena pesada y cadena ligera de longitud completa de este anticuerpo, se proporcionan a continuación (regiones CDR: en negrita y subrayados; secuencia de señal: cursiva):

Región variable de cadena pesada de DX-2930 (SEQ ID NO:1):

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS **HYIMM**WVRQAPGKGLEWVS **GIYSSGGITVYA**
DSVKGRRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAY **RRIGVPRRDEFDI**WGQGTMTVTVSS

15 Región variable de cadena ligera de DX-2930 (SEQ ID NO:2):

DIQMTQSPSTLSASVGDRVTITC **RASQSISSWLA**WYQQKPGKAPKLLIY **KASTLES**GVPSR
FSGSGSGTEFTLTISSLQPDDFATYYC **QQYNTYWT**FGQGTKVEIK

Cadena pesada DX-2930 (SEQ ID NO:9)

MGWSCIIILFLVATATGAHSEEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPG
20 KGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGV
PRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ

PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
FFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGK

Cadena ligera DX-2930 (SEQ ID NO:10)

MGWSCIIILFLVATATGVHSDIQMTQSPSTLSASVGDRVTITCRASQSISSWLAWYQQKPGK

5 APKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTISSLQPDDEFATYYCQYNTYWTFGQGTKV
EIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQESVTE
QDSKDSTYLSSTLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC

En algunos ejemplos, la porción anti-pKal del anticuerpo
bienespecífico comprende una región variable de cadena pesada
10 que comprende una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por
ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a SEQ ID NO:1 y/o una
región variable de cadena ligera que comprende una secuencia
de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o
98%) idéntica a SEQ ID NO:2. El "porcentaje de identidad" de
15 dos secuencias de aminoácido se determina usando el algoritmo
de Karlin y Altschul *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87:2264-68,
1990, modificado como Karlin y Altschul *Proc. Natl. Acad.
Sci. USA* 90:5873-77, 1993. Tal algoritmo se incorpora en los
programas NBLAST y XBLAST (versión 2.0) de Altschul, y
20 *colaboradores J. Mol. Biol.* 215:403-10, 1990. Las búsquedas
de proteína BLAST se puede llevar a cabo con el programa
XBLAST, puntuación=50, longitud de palabra=3 para obtener las
secuencias de aminoácido homologas a las moléculas de
proteína de interés. Cuando existen aberturas entre dos

secuencias, se puede usar Gapped BLAST como se describe en Altschul *y colaboradores, Nucleic Acids Res.* 25(17):3389-3402, 1997. Cuando se usan los programas BLAST y Gapped BLAST, se pueden usar los parámetros predeterminados de los respectivos programas (*por ejemplo*, XBLAST y NBLAST).

En otros ejemplos, la porción anti-pKal en el anticuerpo biespecífico como se describe en la presente comprende una región variable de cadena pesada que comprende las mismas tres CDRs como aquellas en SEQ ID NO:1, y/o las mismas tres CDRs como aquellas en SEQ ID NO:2. Dos regiones variables de cadena pesada (o dos regiones variables de cadena ligera) que tienen las mismas CDRs quiere decir que son idénticas las CDRs en las dos regiones variables de cadena pesada (o regiones variables de cadena ligera) que se determinan por el mismo esquema de numeración. Los esquemas de numeración ejemplares para determinar anticuerpo de CDRs incluyen el esquema de numeración "Kabat" (Kabat y colaboradores (1991), 5th Ed. Public Health Service, National Institutes of Health, Bethesda, Md.), el esquema de numeración "Chothia" (Al-Lazikani y colaboradores, (1997) JMB 273,927-948), el esquema de numeración "Contact" (MacCallum y colaboradores, J. Mol. Biol. 262:732-745 (1996)), el esquema de numeración "IMGT" (Lefranc M P y colaboradores, Dev Comp Immunol, 2003 Enero; 27(1):55-77), y el esquema de numeración "AHO" (Honegger A

and Pluckthun A, J Mol Biol, 2001 Jun. 8; 309(3):657-70).

Como es conocido por aquellos expertos en la técnica, las regiones CDR de los anticuerpos anti-pKal y anti-FXII ejemplares identificados en la presente se determinan
5 mediante el esquema de numeración "Chothia", el cual se usa como un ejemplo.

De manera alternativa, la porción anti-pKal puede incluir una o más (*por ejemplo*, hasta 2, 3, 4, 5, 6, 7 o 8) mutaciones en una o más de las CDRs en comparación a la SEQ
10 ID NO:1 y/o SEQ ID NO:2. Tales mutaciones pueden ser sustituciones de aminoácido conservativas. Como se usa en la presente, una "sustitución de aminoácido conservativa" se refiere a una sustitución de aminoácido que no altera la carga relativa o características de tamaño de la proteína en
15 la cual se lleva a cabo la sustitución de aminoácido. Las sustituciones conservativas de aminoácidos incluyen sustituciones hechas entre aminoácidos dentro del siguiente grupo: (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.

20 En cualquiera de los ejemplos descritos en la presente, la porción anti-pKal del anticuerpo biespecífico puede comprender una o más (*por ejemplo*, 1, 2, 3, 4, 5, o más) mutaciones o eliminaciones en comparación con un anticuerpo de referencia. Tales mutaciones se pueden introducir, por

ejemplo para reducir escisión proteolítica del anticuerpo
 biespecífico, y/o para mejorar la expresión, producción, y/o
 fabricación del anticuerpo biespecífico. En algunas
 modalidades, la porción anti-pKal del anticuerpo biespecífico
 5 es una IgG y la cadena pesada de la IgG tiene el residuo de
 lisina de terminal C eliminado o mutado en comparación con su
 contraparte de tipo natural. En algunas modalidades, la
 lisina de terminal C de cadena pesada de IgG se muta a un
 residuo de aminoácido neutral, por ejemplo, un residuo de
 10 glicina o un residuo de alanina.

Secuencias ejemplares de tal cadena pesada mutada de la
 porción anti-pKal de un anticuerpo biespecífico se
 proporcionan a continuación (usando la cadena pesada de DX-
 2930 como un ejemplo).

15 Cadena pesada DX-2930 que incluye la eliminación del residuo
 de lisina de terminal C (SEQ ID NO:149)

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPG
 KGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGV
 PRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
 20 SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
 DKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
 PREPQVYITLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGS
 FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPG

Cadena pesada DX-2930 que incluye la mutación de lisina de terminal C a glicina (SEQ ID NO:150)

MGWSCIIILFLVATATGAHSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPG
 KGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGV
 5 PRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWN
 SGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSC
 DKHTCTPCPAPPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDG
 VEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQ
 PREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGS
 10 FFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGG

Las porciones en cursiva de las secuencias proporcionadas anteriormente se refieren a los péptidos de señal. La porción anti-pKal del anticuerpo biespecífico descrito en la presente puede incluir los mismos péptidos de
 15 señal, puede tener los péptidos de señal eliminados o remplazados con un diferente péptido de señal. Los péptidos de señal para usarse en la producción de proteínas secretoras son muy bien conocidos en la técnica.

La porción anti-pKal en el anticuerpo biespecífico puede
 20 estar en cualquier forma de anticuerpo, incluyendo, pero no se limita a, anticuerpos (*es decir*, longitud completa) intactos, fragmentos unión a antígeno de los mismos (tal como Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), y anticuerpos de una sola cadena. En algunos ejemplos, la región variable de cadena pesada de la

porción anti-pKal como se describe en la presente se liga a una región constante de cadena pesada (C_H), que puede ser la longitud completa de una región constante de cadena pesada o una porción de la misma (*por ejemplo*, C_{H1} , C_{H2} , C_{H3} , o una
5 combinación de los mismos). La región constante de cadena pesada se puede derivar de cualquier C_H conocida en la técnica. En algunas modalidades, la C_H es una cadena pesada gamma. De manera alternativa o además, la región variable de cadena ligera de la porción anti-pKal se liga a una región
10 constante de cadena ligera (C_L), que puede ser cualquiera C_L conocida en la técnica. En algunos ejemplos, la C_L es una cadena ligera kappa. En otros ejemplos, la C_L es una cadena ligera lambda. Las regiones constantes de cadena pesada y cadena ligera de anticuerpo son muy bien conocidas en la
15 técnica, *por ejemplo*, aquellas proporcionada en la base de datos IMGT (www.imgt.org) o en www.vbase2.org/vbstat.php., ambas de las cuales se incorporan en la presente a manera de referencia. En algunos ejemplos, la porción anti-pKal es una IgG, que puede comprender la misma cadena pesada como DX-2930
20 (SEQ ID NO:9) y/o la misma cadena ligera como DX-2930 (SEQ ID NO:10).

De manera alternativa, la porción anti-pKal en el anticuerpo biespecífico como se describe en la presente puede ser un anticuerpo de una sola cadena (ScFv), en donde una

región variable de cadena pesada y región variable de cadena ligera se fusionan, *por ejemplo*, mediante un ligador péptido tal como el ligador de (GGGGS)₄ (SEQ ID NO:23). En un ejemplo, la región variable de cadena pesada y región variable de cadena ligera se fusionan en una orientación H→L. En otro ejemplo, la región variable de cadena pesada y región variable de cadena ligera se fusionan en una orientación L→H. En algunas modalidades, la porción de cadena ligera de ScFv no contiene un motivo Lisina-Arginina (KR) a su terminal C.

En un ejemplo, la porción anti-pKal en el anticuerpo biespecífico descrito en la presente es DX-2930 (un anticuerpo IgG) descrito en la presente, que comprende una cadena pesada de SEQ ID NO:9 y una cadena ligera de SEQ ID NO:10 o un fragmento de unión a antígeno de la misma.

(ii) Porción anti-FXII

Cualquier anticuerpo capaz de unirse a FXII, tal como FXII activo (FXIIa), se puede usar en la fabricación de los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente. En algunos ejemplos, la porción de anticuerpo anti-FXII en el anticuerpo biespecífico se puede unir a FXIIa humano y su actividad por al menos 50% (por ejemplo, 60%, 70%, 80%, 90%, 95% o mayor). La actividad inhibidora de la porción de anticuerpo anti-FXII en el anticuerpo biespecífico descrito

en la presente se puede determinar mediante métodos rutinarios. En algunos ejemplos, el anticuerpo biespecífico como se describe en la presente tiene un valor anti-FXIIa $K_{i,app}$ menor que 1 nM, *por ejemplo*, 0.5 nM, 0.2 nM, 0.1 nM, 5 0.09 nM, 0.08 nM, 0.07 nM, 0.06 nM, 0.05 nM, 0.04 nM, 0.03 nM, 0.02 nM, 0.01 nM o inferior. El valor $K_{i,app}$ de un anticuerpo se puede estimar siguiendo los métodos conocidos en la técnica.

En algún ejemplo, la porción anti-FXII del anticuerpo 10 biespecífico descrito en la presente se deriva de anti-FXII de clones 559C-M0071-F06, 559C-M0179-D04, 559C-M0181-C02, 559C-M0180-G03 y 559C-M0184-B04. Las regiones variables de cadena pesada y regiones variables de cadena ligera de estos clones se proporcionan a continuación (CDRs en negrita y 15 subrayadas):

Región variable de cadena pesada de clones 559C-M0071-F06, 559C-M0179-D04, 559C-M0181-C02 y 559C-M0180-G03 (SEQ ID NO:3):

EVQLLES G GGLVQPGGSLRLS CAASGFTFS **GYIMA**WVRQAPGKGLEWVS **YIYPSGGITVYADSVK**
20 **G**RFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTR **QRYRGPKYYYYMDV**WGKGTTVTVSS

Región variable de cadena pesada del clon 559C-M0184-B04 (SEQ ID NO:4):

EVQLLES G GGLVQPGGSLRLS CAASGFTFS **FYSMH**WVRQAPGKGLEWVS **RIYPSGGVTKYADSVK**
GRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCTR **QRYRGPKYYYYMDV**WGKGTTVTVSS

Región variable de cadena ligera de clones 559C-M0071-F06 y
559C-M0184-B04 (SEQ ID NO:5):

DIQMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSQSLLHSNGYNYLD**WYLQKPGQSPQLLIY**LGSNRAS**
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQALQTPWT**FGQGTKVEIKR

5 Región variable de cadena ligera de clon 559C-M0179-D04 (SEQ
ID NO:6):

DIQMTQSPLSLSVAPGEPASISC**RSSQSLLHRNGHNYLD**WYLQKPGQSPQLLIY**LGSNRAS**
GVPERFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYC**MQALQART**FGQGTKVEIKR

Región variable de cadena ligera del clon 559C-M0181-C02 (SEQ
10 ID NO:7):

DIQMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSQSLLHSNGYNYLD**WYLQKPGQSPQLLIY**LGSNRAS**
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQALQTRT**FGQGTKVEIKR

Región variable de cadena ligera de clon 559C-M0180-G03 (SEQ
ID NO:8):

15 DIQMTQSPLSLPVTPGEPASISC**RSSQSLLHSNGYNYLD**WYLQKPGQSPQIMIIY**LGSNRAS**
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYC**MQALQTPRT**FGQGTKVEIKR

Región variable de cadena pesada of clon 620I-X0173-A11
(620I-X0177-A01) (SEQ ID NO: 123)

EVQLLESQGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**QYVMH**WVRQAPGKCLEWVS**SIWPSGGHTRYADSV**

20 **KG**RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**QRYRGPKYYYYMDV**WGQGTTVTVSS

Región variable de cadena pesada del clon 620I-X0173-C07
(620I-X0177-C01) (SEQ ID NO: 124)

EVQLLESQGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS**WYVMH**WVRQAPGKCLEWVS**SIYPSGGKTSYADSVK**

GRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAR**QRYRGPKYYYYMDV**WGQGTTVTVSS

Región variable de cadena pesada del clon 620I-X0173-E07
(620I-X0177-E01) (SEQ ID NO: 125)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMHWVRQAPGKCLEWVSVIYPSGGKTRYADSVK
GRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSS

5 Región variable de cadena pesada del clon 620I-X0173-G11
(620I-X0177-G01) (SEQ ID NO: 126)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSGGLTKYADSVK
GRFTISRDN SKNTLYLQMN SLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSS

Región variable de cadena ligera de clon 620I-X0173-A11 (SEQ
10 ID NO: 127)

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRAS
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR

Región variable de cadena ligera del clon 620I-X0173-C07 (SEQ
ID NO: 128)

15 DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRAS
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR

Región variable de cadena ligera del clon 620I-X0173-E07 (SEQ
ID NO: 129)

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRAS
20 GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR

Región variable de cadena ligera del clon 620I-X0173-G11 (SEQ
ID NO: 130)

DIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRAS
GVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR

Las regiones variables de cadena ligera de los clones 620I-X0173-A11 (SEQ ID No:127), 620I-X0173-C07 (SEQ ID NO: 128), 620I-X0173-E07 (SEQ ID NO: 129) y 620I-X0173-G11 (SEQ ID NO: 130) son idénticas.

5 En algunos ejemplos, la porción anti-FXIIa del anticuerpo biespecífico comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:4, y/o una región variable de cadena
10 ligera que comprende una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs:5-8. Por ejemplo, la región variable de cadena pesada puede comprender una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a SEQ ID
15 NO:3 y la región variable de cadena ligera puede comprender una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs:5-8. De manera alternativa, la región variable de cadena pesada puede comprender una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por*
20 *ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a SEQ ID NO:4 y la región variable de cadena ligera puede comprender una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a SEQ ID NO:5.

En algunos ejemplos, la porción anti-FXIIa del

anticuerpo biespecífico comprende una región variable de cadena pesada que comprende una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs: 123-126, y/o una región variable de

5 cadena ligera que comprende una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a cualquiera de SEQ ID NOs:127-130. Por ejemplo, la región variable de cadena pesada puede comprender una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%)

10 idéntica a SEQ ID NO:123 and la región variable de cadena ligera puede comprender una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a SEQ ID NO: 127. De manera alternativa, la región variable de cadena pesada puede comprender una secuencia de aminoácido al menos

15 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a SEQ ID NO:124 and la región variable de cadena ligera puede comprender una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a SEQ ID NO: 128. De manera alternativa, la región variable de cadena pesada puede

20 comprender una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a SEQ ID NO:125 y la región variable de cadena ligera puede comprender una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a SEQ ID NO: 129. De manera alternativa,

la región variable de cadena pesada puede comprender una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a SEQ ID NO:126 and la región variable de cadena ligera puede comprender una secuencia de aminoácido al menos 80% (*por ejemplo*, 85%, 90%, 95%, o 98%) idéntica a SEQ ID NO: 130.

En otros ejemplos, la porción anti-FXIIa en el anticuerpo biespecífico como se describe en la presente comprende una región variable de cadena pesada y/o una región variable de cadena ligera que comprende las mismas CDRs como aquellas en los clones 559C-M0071-F06, 559C-M0179-D04, 559C-M0181-C02, 559C-M0180-G03, 559C-M0184-B04, 620I-X0173-A11, 620I-X0173-C07, 620I-X0173-E07, o 620I-X0173-G11 y/o las mismas tres CDRs como aquellas en estos clones. Ver la Tabla 1 a continuación:

Tabla 1: Secuencias de CDR de clones Anti-FXIIa:

Clones	LCDR1	LCDR2	LCDR3	HCDR1	HCDR2	HCDR3
559C-M0071-F06	RSSQSLHSNGY NYLD (SEQ ID NO:34)	LGSNRAS (SEQ ID NO:36)	MQALQTPWT (SEQ ID NO:37)	GYIMA (SEQ ID NO:41)	YIYPSGGITVY A DSVKG (SEQ ID NO:43)	QRYRGPKYY YYMDV (SEQ ID NO:45)
559C-M0179-D04	RSSQSLHRNGH NYLD (SEQ ID NO:35)	LGSNRAS (SEQ ID NO:36)	MQALQART (SEQ ID NO:38)	GYIMA (SEQ ID NO:41)	YIYPSGGITVY A DSVKG (SEQ ID NO:43)	QRYRGPKYY YYMDV (SEQ ID NO:45)
559C-M0181-C02	RSSQSLHSNGY NYLD (SEQ ID NO:34)	LGSNRAS (SEQ ID NO:36)	MQALQTRT (SEQ ID NO:39)	GYIMA (SEQ ID NO:41)	YIYPSGGITVY A DSVKG (SEQ ID NO:43)	QRYRGPKYY YYMDV (SEQ ID NO:45)

5

10

559C-M0180-G03	RSSQSLHSNGY NYLD (SEQ ID NO:34)	LGSNRAS (SEQ ID NO:36)	MQALQTPRT (SEQ ID NO:40)	GYIMA (SEQ ID NO:41)	YIYPSGGITVY A DSVKG (SEQ ID NO:43)	QRYRGPKYY YYMDV (SEQ ID NO:45)
559C-M0184-B04	RSSQSLHSNGY NYLD (SEQ ID NO:34)	LGSNRAS (SEQ ID NO:36)	MQALQTPWT (SEQ ID NO:37)	FYSMH (SEQ ID NO:42)	RIYPSGGVTKY A DSVKG (SEQ ID NO:44)	QRYRGPKYY YYMDV (SEQ ID NO:45)
620I-X0173-A11	RSSQSLHSNGYN YLD (SEQ ID NO: 131)	LGSNRAS (SEQ ID NO: 36)	MQALQTPWT (SEQ ID NO:37)	QYVMH (SEQ ID NO: 132)	SIWPSGGHTRY ADSVKG (SEQ ID NO: 133)	QRYRGPKYYYYM DV (SEQ ID NO: 134)
620I-X0173-C07	RSSQSLHSNGYN YLD (SEQ ID NO: 131)	LGSNRAS (SEQ ID NO: 36)	MQALQTPWT (SEQ ID NO:37)	WYVMH (SEQ ID NO: 135)	SIYPSGGKTSY ADSVKG (SEQ ID NO: 136)	QRYRGPKYYYYM DV (SEQ ID NO: 134)
620I-X0173-E07	RSSQSLHSNGYN YLD (SEQ ID NO: 131)	LGSNRAS (SEQ ID NO: 36)	MQALQTPWT (SEQ ID NO:37)	WYSMH (SEQ ID NO: 137)	VIYPSGGKTRY ADSVKG (SEQ ID NO: 138)	QRYRGPKYYYYM DV (SEQ ID NO: 134)
620I-X0173-G11	RSSQSLHSNGYN YLD (SEQ ID NO: 131)	LGSNRAS (SEQ ID NO: 36)	MQALQTPWT (SEQ ID NO:37)	HYVMH (SEQ ID NO: 139)	SIYPSGGLTKY ADSVKG (SEQ ID NO: 140)	QRYRGPKYYYYM DV (SEQ ID NO: 134)

15

20

De manera alternativa, la porción anti-FXIIa puede incluir una o más (*por ejemplo*, hasta 2, 3, 4, 5, 6, 7, o 8) mutaciones en una o más de las CDRs de cadena pesada y/o cadena ligera enlistadas en la Tabla 1 anterior, en comparación con cualquiera de los clones 559C-M0071-F06, 559C-M0179-D04, 559C-M0181-C02, 559C-M0180-G03, 559C-M0184-B04, 620I-X0173-A11, 620I-X0173-C07, 620I-X0173-E07 o 620I-X0173-G11. Tales mutaciones pueden ser sustituciones de aminoácido conservativas como se describen en la presente.

En algunas modalidades, la porción anti-FXIIa en el anticuerpo biespecífico descrito en la presente es una molécula IgG, que puede ser una IgG que ocurre naturalmente o

un mutante, *por ejemplo*, comprendiendo una o más (*por ejemplo*, 1, 2, 3, 4, 5, o más) mutaciones o eliminaciones, por ejemplo para reducir escisión proteolítica del anticuerpo biespecífico, para reducir heterogeneidad de carga del anticuerpo biespecífico, y/o para mejorar la expresión, producción, y/o fabricación del anticuerpo biespecífico. En algunas modalidades, la cadena pesada de la IgG tiene el residuo de lisina de terminal C retirado o mutado en comparación con su contraparte de tipo natural. En algunas modalidades, la lisina de terminal c de cadena pesada de IgG se muta a un residuo de aminoácido neutral, por ejemplo, un residuo de glicina o un residuo de alanina.

La porción anti-FXIIa en el anticuerpo biespecífico puede estar en cualquier forma de anticuerpo, incluyendo, pero no se limita a anticuerpos (*es decir*, longitud completa) intactas, fragmentos de unión a antígeno de los mismos (tal como Fab, Fab', F(ab')₂, Fv), y anticuerpos de una sola cadena. En algunos ejemplos, la región variable de cadena pesada de la porción anti-pKal como se describe en la presente se liga a una región constante de cadena pesada (C_H), que puede ser de longitud completa de una región constante de cadena pesada o una porción de la misma (por ejemplo, C_H1, C_H2, C_H3, o una combinación de las mismas). La región constante de cadena pesada se puede derivar de

cualquier C_H conocida en la técnica. En algunas modalidades, la C_H es una cadena pesada gamma. De manera alternativa o además, la región variable de cadena ligera de la porción anti-pKal se liga a una región constante de cadena ligera (5 C_L), que puede ser cualquiera C_L conocida en la técnica. En algunos ejemplos, la C_L es una cadena ligera kappa. En otros ejemplos, la C_L es cadena ligera lambda. Las regiones constantes de cadena pesada y cadena ligera de anticuerpo son muy bien conocidas en la técnica, por ejemplo, descritas en 10 la presente.

De manera alternativa, la porción anti-FXIIa en el anticuerpo biespecífico como se describe en la presente puede ser un anticuerpo de una sola cadena, en donde una región variable de cadena pesada y región variable de cadena ligera 15 se fusionan, *por ejemplo*, mediante un ligador péptido flexible tal como el ligador de $(GGGGS)_4$ (SEQ ID NO:23). La región variable de cadena pesada y región variable de cadena ligera se pueden fusionar en una orientación $H \rightarrow L$, o fusionarse en una orientación $L \rightarrow H$. En algunas modalidades, 20 la porción de cadena ligera de la ScFv no contiene un motivo KR en su terminal C.

En algunas modalidades, la porción anti-FXIIa es un scFv que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:3 o SEQ ID NO:4, y/o una región variable de cadena ligera

de cualquiera de SEQ ID NOs:5-8. En un ejemplo, la porción anti-FXIIa es un anticuerpo de scFv que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:3 y una región variable de cadena ligera de cualquiera de SEQ ID NOs:5-8 en cualquier orientación ya sea $H \rightarrow L$ o $L \rightarrow H$. En otro ejemplo, la porción anti-FXIIa es un anticuerpo de scFv que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:4 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO:5 en cualquier orientación ya sea $H \rightarrow L$ o $L \rightarrow H$. En algunas modalidades, la porción anti-FXIIa es un scFv que comprende una región variable de cadena pesada de cualquiera de SEQ ID NOs:123-126, y/o una región variable de cadena ligera de cualquiera de SEQ ID NOs:127-130. En un ejemplo, la porción anti-FXIIa es un anticuerpo de scFv que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:123 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 127 en cualquier orientación ya sea $H \rightarrow L$ o $L \rightarrow H$. En un ejemplo, la porción anti-FXIIa es un anticuerpo de scFv que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:123 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 127 en cualquier orientación ya sea $H \rightarrow L$ o $L \rightarrow H$. En otro ejemplo, la porción anti-FXIIa es un anticuerpo de scFv que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:124 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 128 en cualquier orientación ya

sea H→L o L→H. En otro ejemplo, la porción anti-FXIIa es un anticuerpo de scFv que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:125 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 129 en cualquier orientación ya sea H→L o L→H. En otro ejemplo, la porción anti-FXIIa es un anticuerpo de scFv que comprende una región variable de cadena pesada de SEQ ID NO:126 y una región variable de cadena ligera de SEQ ID NO: 130 en cualquier orientación ya sea H→L o L→H.

En algunas modalidades, la cadena pesada y región variable de cadena ligera de cualquiera de los anticuerpos scFV descritos en la presente están conectados, por ejemplo, mediante unión de disulfuro, tal como entre un residuo V_H 44 y un residuo V_L 100.

(iii) Formato de los anticuerpos biespecíficos anti-pKal/anti-FXII

Los anticuerpos biespecíficos anti-pKal/anti-FXIIa como se describen en la presente pueden estar en cualquier formato de anticuerpos biespecíficos como se conocen en la técnica, por ejemplo, aquellos descritos en Klein y colaboradores, *mAbs* 4(6):653-663, 2012; Kontermann y colaboradores, *mAbs* 4(2):182-197, 2012; y Coloma y colaboradores, *Nature Biotechnology* 15:159-163, 1997. En algunos ejemplos, el anticuerpo biespecífico puede ser un anticuerpo de longitud

completa híbrido (también conocido como un anticuerpo quadroma o trifuncional) que comprende un brazo (un complejo de cadena pesada/cadena ligera) que se une a pKal y otro brazo (un complejo de cadena pesada/cadena ligera) que se une a FXII. En algunos ejemplos, el anticuerpo biespecífico es un Fab'₂ biespecífico, que comprende un fragmento Fab que se une a pKal y otro fragmento Fab que se une a FXII, o una molécula tri-Fab que comprende dos copias de un fragmento Fab que se une a un antígeno objetivo (por ejemplo, pKal o FXIIa) y una copia de un fragmento Fab que se une al otro antígeno objetivo (por ejemplo, FXIIa o pKal). De manera alternativa, el anticuerpo biespecífico es una molécula scFv tándem, que comprende al menos una copia de un scFv que se une a pKal y una copia de otro scFv que se une a FXIIa. El anticuerpo biespecífico descrito en la presente también puede ser un diacuerpo o un diacuerpo de una sola cadena como se conoce en la técnica. Otros ejemplos incluyen, pero no se limitan a, IgG₂, F(ab')₂, cuerpo CovX, scFv₄-Ig, IgG-scFv, scFv-IgG, DVD-Ig, IgG-sVD, sVD-IgG, 2-in-1-IgG, mAb², Tandemab común LC, kih IgG, kih IgG común LC, CrossMab, kih IgG-scFab, mAb-Fv, pares de carga, cuerpo SEED, Diacuerpo (Db), dsDd, scDb, tandAbs, scFv tándem, triple cuerpo, Fab-scFv, y F(ab')₂-scFv₂. Ver, por ejemplo, FIGURA 2 de Kontermann y colaboradores, *mAbs* 4(2):182-197, 2012.

En algunas modalidades, el andamio de los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente se diseña para comprender una porción de anticuerpo IgG y una porción scFv, que se fusiona a la terminal C de ya sea una cadena pesada o una cadena ligera de la porción IgG (por ejemplo, la terminal C de la cadena pesada de la IgG, ver, *por ejemplo*, Coloma, M.J. & Morrison, S.L. Design and production of novel tetravalent bispecific antibodies. Nature Biotechnology. 15(2): 159-163. 1997). La cadena pesada o ligera de IgG se puede fusionar con el scFv mediante un ligador péptido corto, tal como un péptido que es rico en residuos de Gly y Ser. En un ejemplo, el ligador péptido comprende la secuencia de aminoácido de SGGGS (SEQ ID NO:22).

Tal anticuerpo biespecífico puede comprender un primer polipéptido que comprende una cadena ligera de un primer anticuerpo, que comprende una región variable de cadena ligera (V_L) y una región constante de cadena ligera (C_L); y un segundo polipéptido que comprende una proteína de fusión que comprende, de la terminal N a la terminal C, una cadena pesada del primer anticuerpo, que comprende una región variable de cadena pesada (V_H), una región constante de cadena pesada (C_H) y un segundo anticuerpo, que puede ser un anticuerpo de una sola cadena. De manera alternativa, el anticuerpo biespecífico puede comprender un primer

polipéptido que comprende una cadena pesada de un primer anticuerpo, la cadena pesada que comprende una región variable de cadena pesada (V_H) y una región constante de cadena pesada (C_H) o una porción de la misma; y un segundo

5 polipéptido que comprende una proteína de fusión que comprende, de la terminal N a la terminal C, una cadena ligera del primer anticuerpo, que comprende una región variable de cadena ligera (V_L) y una región constante de cadena ligera (C_L), y un segundo anticuerpo, el cual es un

10 anticuerpo de una sola cadena. En algunos ejemplos, el primer anticuerpo se puede unir a pKal (*por ejemplo*, pKal activa) y el segundo anticuerpo se puede unir a FXII (*por ejemplo*, FXIIa). En otros ejemplos, el primer anticuerpo se puede unir a FXIIa y el segundo anticuerpo se puede unir a pKal.

15 La C_L de la cadena ligera del primer anticuerpo puede ser cualquier C_L conocida en la técnica. En algunas modalidades, la C_L es una cadena ligera kappa. En algunas modalidades, la C_L es cadena ligera lambda. La C_H de la cadena pesada del primer anticuerpo puede ser cualquier C_H conocida

20 en la técnica. En algunas modalidades, la C_H es una cadena pesada gamma. Tales regiones constantes de cadena pesada y ligera son muy bien conocidas en la técnica, por ejemplo, como se describe en la presente.

En un ejemplo, el biespecífico comprende un anticuerpo

IgG derivado de DX-2930 y un anticuerpo de scFv derivado del clon 559C-M0071-F06, 559C-M0179-D04, 559C-M0181-C02, 559C-M0180-G03, 559C-M0184-B04, 620I-X0173-A11, 620I-X0173-C07, 620I-X0173-E07, o 620I-X0173-G11, en cualquier orientación ya sea $H \rightarrow L$ o $L \rightarrow H$. Ver la descripción anterior. Un anticuerpo derivado de un anticuerpo principal puede comprender cadena pesada y cadena ligera sustancialmente similares a aquellas del anticuerpo principal (comparten al menos 80%, 85%, 90%, 95%, o 98% de identidad de secuencia). En algunos ejemplos, tal anticuerpo comprende las mismas CDRs de cadena pesada y cadena ligera como el anticuerpo principal. En otros ejemplos, tal anticuerpo comprende CDRs de cadena pesada y/o cadena ligera que son sustancialmente idénticas a aquellas del anticuerpo principal, *por ejemplo*, comprende hasta 5, 4, 3, 2, o 1 variaciones de residuos de aminoácidos tales como sustituciones de aminoácido conservativas en comparación a las CDRs del anticuerpo principal.

En algunas modalidades, el anticuerpo de scFv en el anticuerpo biespecífico comprende una V_H fusionada a la terminal N de la V_L . En otras modalidades, el anticuerpo de scFv comprende una V_H fusionada a la terminal C de la V_L . En cualquiera de los anticuerpos scFv descritos en la presente, las regiones V_H y V_L se pueden fusionar mediante un ligador, tal como un ligador péptido.

Un ligador péptido como se describe en la presente puede comprender, por ejemplo, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 o más residuos de aminoácidos. En algunas modalidades, el ligador péptido puede comprender 2-50, 5-25, o 5-20 aminoácidos. En algunas modalidades, el ligador péptido es SGGGS. En algunas modalidades, el ligador péptido es (G₄S)_x, en donde x puede ser 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, o más. En algunas modalidades, x es 4.

Cualquiera de los ligadores péptidos descritos en la presente, *por ejemplo*, el ligador SGGGS (SEQ ID NO:22) o el ligador (GGGGS)₄ (SEQ ID NO:23), puede comprender aminoácidos que ocurren naturalmente y/o aminoácidos que no ocurren naturalmente. Los aminoácidos que ocurren naturalmente incluyen alanina (Ala), arginina (Arg), asparagina (Asn), ácido aspártico (Asp), cisteína (Cys), ácido glutámico (Glu), glutamina (Gln), glicina (Gly), histidina (His), isoleucina (Ile), Leucina (Leu), lisina (Lys) metionina (Met), ornitina (Orn), fenilalanina (Phe), prolina (Pro), serina (Ser), treonina (Thr), triptófano (Trp) y valina (Val). Los aminoácidos que no ocurren naturalmente pueden incluir aminoácidos protegidos tales como aminoácidos que ocurren naturalmente protegidos con los grupos tales como acetilo, formilo, tosilo, nitro y similares. Ejemplos no limitantes de aminoácidos que no ocurren naturalmente incluyen

azidohomoalanina, homopropargilglicina, homoalilglicina, p-
 bromofenilalanina, p-yodofenilalanina, azidofenilalanina,
 acetilfenilalanina o etinilefenilalanina, aminoácidos que
 contienen un alqueno interno tales como trans-crotilalqueno,
 5 seril alil éter, alilglicina, propargilglicina, vinilglicina,
 pirrolisina, N-sigma-o-azidobenciloxicarbonil-L-lisina
 (AzZLys), N-sigma-propargiloxicarbonil-L-Lisina, N-sigma-2-
 azidoetoxicarbonil-L-Lisina, N-sigma-terc-butiloxicarbonil-L-
 lisina (BocLys), N-sigma-aliloxicarbonil-L-Lisina (AlocLys),
 10 N-sigma-acetil-L-Lisina (AcLys), N-sigma-benziloxicarbonil-L-
 Lisina (ZLys), N-sigma-ciclopentiloxicarbonil-L-Lisina
 (CycLys), N-sigma-D-prolil-L-Lisina, N-sigma-nicotinoil-L-
 Lisina (NicLys), N-sigma-N-Me-antraniloil-L-Lisina (NmaLys),
 N-sigma-biotinil-L-Lisina, N-sigma-9-
 15 fluorenilmtoxycarbonil-L-Lisina, N-sigma-metil-L-Lisina, N-
 sigma-dimetil-L-Lisina, N-sigma-trimetil-L-Lisina, N-sigma-
 isopropil-L-Lisina, N-sigma-dansil-L-Lisina, N-sigma-o,p-
 dinitrofenil-L-Lisina, N-sigma-p-toluenesulfonil-L-Lisina, N-
 sigma-DL-2-amino-2carboxietil-L-Lisina, N-sigma-
 20 fenilpiruvamida-L-Lisina, N-sigma-piruvamida-L-Lisina,
 azidohomoalanina, homopropargilglicina, homoalilglicina, P-
 bromofenilalanina, p-yodofenilalanina, azidofenilalanina,
 acetilfenilalanina o etinilefenilalanina, aminoácidos que
 contienen un alqueno interno tales como trans-crotilalqueno,

seril alil éter, alilglicina, propargilglicina y
vinilglicina.

En algunas modalidades, la porción scFv de los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente se puede
5 diseñar para introducir residuos de cisteína en cadenas tanto de V_H como V_L para la formación de una o más uniones de disulfuro, que pueden reducir la formación de agregados de alto peso molecular. En algunos ejemplos, un residuo de cisteína se puede introducir en el residuo 44 de la cadena
10 V_H . De manera alternativa o además, un residuo de cisteína se puede introducir en el residuo 100 de la cadena V_L .

Anticuerpos biespecíficos anti-pKal/anti-FXIIa ejemplares incluyen clones X0120-A01, X0120-C01, X0120-E01, X0120-G01, X0121-A03, X0121-C01, X0121-E01, X0121-G01, X0122-
15 A01, X0122-C01, 620I-X0173-A11, 620I-X0173-C07, 620I-X0173-E07, y 620I-X0173-G11 descritos en los Ejemplos más adelante. Otros anticuerpos biespecíficos anti-pKal/anti-FXIIa ejemplares incluyen clones 620I-X138-A08, 620I-X136-B02, 620I-X139-A12, 620I-X137-B08, 620I-X142-A04, 620I-X142-B11,
20 620I-X138-B01, 620I-X136-C01, 620I-X138-A12, 620I-X136-A12, 620I-X138-A02, 620I-X136-A05, 620I-X138-C07, 620I-X136-E07, 620I-X142-B02, 620I-X136-F11, 620I-X142-A05, 620I-X136-C09, 620I-X138-B10, 620I-X136-C08, 620I-X139-A11, 620I-X136-D05, 620I-X138-D04, 620I-X136-G08, 620I-X142-B07, 620I-X142-A11,

620I-X138-G12, 620I-X142-A10, 620I-X138-D03, 620I-X137-C08,
 620I-X142-E02, 620I-X136-E05, 620I-X138-B06, 620I-X136-A09,
 620I-X138-A06, 620I-X137-A10, 620I-X139-B10, 620I-X136-A04,
 620I-X138-D06, 620I-X136-C11, 620I-X138-B07, 620I-X136-A02,
 5 620I-X139-G02, 620I-X136-B07, 620I-X138-E03, 620I-X136-G05,
 620I-X139-D12, 620I-X136-A01, 620I-X138-C12, 620I-X136-G10,
 620I-X138-D05, 620I-X136-F07, 620I-X138-A01, 620I-X142-E09,
 620I-X138-D11, 620I-X136-C05, 620I-X142-A02, 620I-X136-C04,
 620I-X138-F02, 620I-X136-G04, 620I-X139-G12, 620I-X136-B11,
 10 620I-X142-D04, 620I-X136-D06, 620I-X139-A01, 620I-X136-D12,
 620I-X138-F05, 620I-X136-A11, 620I-X139-E05, 620I-X136-C12,
 and 620I-X138-E05 descritos en los Ejemplos más adelante.

Preparación de Anticuerpos Biespecíficos

Se puede usar cualquier método adecuado conocido en la
 15 técnica, *por ejemplo*, la tecnología recombinante estándar,
 para la preparación de los anticuerpos biespecíficos
 descritos en la presente. Se proporcionan Ejemplos más
 adelante.

Genes de cadena pesada y cadena ligera de anticuerpos
 20 principales adecuados se pueden obtener mediante la
 tecnología rutinaria, *por ejemplo*, amplificación PCR de una
 fuente adecuada. En un ejemplo, el ADN que codifica un
 anticuerpo monoclonal específico para un antígeno objetivo se
 puede aislar fácilmente y secuenciado usando procedimientos

convencionales (*por ejemplo*, al usar sondas de oligonucleótidos que son capaces de unirse específicamente a genes que codifican las cadenas pesadas y ligeras de los anticuerpos monoclonales). Una célula, tal como una célula de hibridoma, puede servir como una fuente de tal ADN. En otro ejemplo, se puede obtener la secuencia de ADN que codifica un anticuerpo monoclonal específico para un antígeno objetivo, *por ejemplo*, a partir de una base de datos u otra fuente públicamente disponible y el ADN se puede sintetizar. Los genes de anticuerpo principal también se pueden obtener desde la selección de una biblioteca de anticuerpos adecuada con un antígeno de interés.

Los genes de cadena pesada y ligera de anticuerpo así obtenidos se pueden analizar para identificar las regiones que determinan la complementariedad (CDR) después de la tecnología rutinaria. Cualquiera de los polipéptidos en los anticuerpos biespecíficos como se describen en la presente se pueden preparar mediante tecnología recombinante convencional e insertarse en vectores de expresión para la producción en células hospederas adecuadas.

Las secuencias de nucleótido que codifican uno o más de los polipéptidos de un anticuerpo biespecífico como se describe en la presente se pueden clonar en un vector de expresión, cada secuencia de nucleótido está en unión

operable a un promotor adecuado. De manera alternativa, las secuencias de nucleótido pueden estar en unión operable con un solo promotor, de modo que las dos secuencias se expresen del mismo promotor. En algunos ejemplos, la expresión de los dos polipéptidos se controla por un promotor común. En otros ejemplos, la expresión de cada uno de los dos polipéptidos está bajo el control de un promotor distinto. En otra alternativa, las secuencias de nucleótido que codifican los dos polipéptidos se colona en dos vectores, los cuales se pueden introducir en las mismas o diferentes células. Cuando los dos polipéptidos se expresan en diferentes células, cada uno de ellos se puede aislar de las células hospederas que expresan tales y las dos cadenas pesadas aisladas se pueden mezclar e incubarse bajo condiciones adecuadas permitiendo la formación del anticuerpo biespecífico.

De manera general, una secuencia de ácido nucleico que codifica una o todas las cadenas de un anticuerpo biespecífico se puede clonar en un vector de expresión en unión operable con un promotor adecuado usando los métodos conocidos en la técnica. Por ejemplo, la secuencia de nucleótido y el vector pueden estar en contacto, bajo condiciones adecuadas, con una enzima de restricción para crear extremos complementarios en cada molécula que pueden acoplarse entre sí y unirse conjuntamente con una ligasa. De

manera alternativa, los ligadores de ácido nucleico sintéticos se pueden ligar a los extremos de un gen. Este ligador sintético contiene secuencias de ácido nucleico que corresponden a un sitio de restricción particular en el
5 vector. La selección de los vectores/promotor de expresión dependerá en el tipo de células hospederas para uso en la producción de los anticuerpos.

Se pueden usar una variedad de promotores para la expresión de los anticuerpos biespecíficos descritos en la
10 presente, incluyendo, pero no se limitan a, promotor oportuno intermedio del citomegalovirus (CMV), un LTR viral tal como el virus del sarcoma de Rous LTR, HIV-LTR, HTLV-1 LTR, el promotor oportuno del virus de simio 40 (SV40), promotor *E. coli* lac UV5 y el promotor del virus tk del herpes simple.

15 También se pueden usar promotores regulables. Tales promotores regulables incluyen aquellos que usan el represor lac de *E. coli* como un modulador de transcripción para regular la transcripción de promotores de células de mamífero que llevan el operador lac [Brown, M. y colaboradores, *Cell*,
20 49:603-612 (1987)], aquellos que usan el represor de tetraciclina (tetR) [Gossen, M., and Bujard, H., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 89:5547-5551 (1992); Yao, F. y colaboradores, *Human Gene Therapy*, 9:1939-1950 (1998); Shockelt, P., y colaboradores, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 92:6522-6526

(1995)]. Otros sistemas incluyen FK506 dímero, VP16 o p65 que usan astradiol, RU486, difenol murislerona, o rapamicina. Los sistemas inducibles están disponibles en Invitrogen, Clontech y Ariad.

5 Se pueden usar promotores regulables que incluyen un represor con el operón. En una modalidad, el represor lac de *E. coli* puede funcionar como un modulador transcripcional para regular la transcripción de los promotores de célula de mamífero que llevan el operador lac [M. Brown y colaboradores, *Cell*, 49:603-612 (1987)]; Gossen and Bujard (1992); [M. Gossen y colaboradores, *Natl. Acad. Sci. USA*, 89:5547-5551 (1992)] combinar el represor de tetraciclina (tetR) con el activador de transcripción (VP 16) para crear una proteína de fusión del activador de transcripción de la
10 célula de mamífero tetR, tTa (tetR-VP 16), con el promotor mínimo que lleva tetO derivado del promotor inmediato-oportuno principal del citomegalovirus humano (hCMV) para crear un sistema operativo tetR-tet para controlar la
15 expresión génica en células de mamífero. En una modalidad, se utiliza un interruptor inducible de tetraciclina. El represor de tetraciclina (tetR) solo, en lugar de derivados de fusión de factor de transcripción de célula de mamífero tetR puede funcionar como potente trans modulador para regular la
20 expresión génica en células de mamífero cuando el operador de

tetraciclina es posiciona apropiadamente cadena abajo para el elemento TATA del promotor CMVIE (Yao *y colaboradores, Human Gene Therapy*). Una ventaja particular de este interruptor inducible de tetraciclina es que no requiere el uso de una

5 proteína de fusión transactivadora o represora de células de mamífero represor de tetraciclina, que en algunos casos puede ser toxica para las células (Gossen *y colaboradores, Natl. Acad. Sci. USA, 89:5547-5551 (1992); Shockett y colaboradores, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92:6522-6526*

10 (1995)), para lograr sus efectos regulables.

Adicionalmente, el vector puede contener, por ejemplo, alguno o todo de lo siguiente: un gene marcador seleccionable, tal como un gene de neomicina para la selección de transfectantes estables o transitorios en

15 células de mamíferos; secuencias mejoradoras/promotoras del gene oportuno inmediato de CMV humano para altos niveles de transcripción; terminación de transcripción y ARN que procesan señales de SV40 para estabilidad de ARNm; orígenes poliovirus SV40 de replicación y ColE1 para replicación episomal

20 apropiada; sitios de unión de ribosoma (IRESes), múltiples sitios de clonación versátiles; y promotores ARN T7 y SP6 para la transcripción *in vitro* de ARN sentido y antisentido. Los vectores y métodos adecuados para producir vectores que contienen transgenes son muy bien conocidos y disponibles en

la técnica.

Ejemplos de señales de poliadenilación útiles para practicar los métodos descritos en la presente incluyen, pero no se limitan a, señal de poliadenilación de colágeno I humano, señal de poliadenilación de colágeno II humano y
5 señal de poliadenilación SV40.

Otros aspectos de la descripción se relacionan a un método para preparar un anticuerpo específico, que comprende: cultivar una célula hospedera o conjunto de célula hospedera
10 descrita en la presente bajo condiciones que permiten la expresión del primer polipéptido y el segundo polipéptido; y aislar el anticuerpo específico que comprende el primer polipéptido y el segundo polipéptido. En algunas modalidades, la célula hospedera comprende un vector de expresión que
15 comprende una primera secuencia de nucleótido que codifica un primer polipéptido como se describe en la presente y una segunda secuencia de nucleótido que codifica un segundo polipéptido como se describe en la presente.

Las células hospederas adecuadas para usarse en la
20 preparación de los anticuerpos inespecíficos descritos en la presente pueden ser cualquier célula hospedera conocida en la técnica que se puede usar para la producción de proteína, incluyendo, pero no se limita a, células bacterianas, células de levadura, células de insecto, células vegetales o células

de mamífero. Los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente se pueden producir en células bacterianas, *por ejemplo*, células *E. coli*. De manera alternativa, los anticuerpos biespecíficos se pueden producir en células eucarióticas. En una modalidad, los anticuerpos se expresan en una célula de levadura tal como *Pichia* (ver, *por ejemplo*, Powers y colaboradores, 2001, *J. Immunol. Methods*. 251:123-35), *Hanseula*, o *Saccharomyces*. En otra modalidad, los anticuerpos biespecíficos se pueden producir en células de mamífero. Las células hospederas de mamífero para expresar anticuerpos incluyen, pero no se limitan a, células 293 (ver, *por ejemplo*, ATCC CRL-1573, Colección de Cultivo Tipo Americano^{MR}, y células Expi293FTM, Life TechnologiesTM), Ovario de Hámster Chino (células CHO) (incluyendo células dhfr- CHO, descritas en Urlaub and Chasin, 1980, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 77:4216-4220, usadas con un marcador seleccionable DHFR, *por ejemplo*, como se describe en Kaufman and Sharp, 1982, *Mol. Biol.* 159:601 621), líneas celulares linfocíticas, *por ejemplo*, células de mieloma NS0 y células SP2, células COS, y una célula de un animal transgénico, *por ejemplo*, un mamífero transgénico. Por ejemplo, las células son células epiteliales mamarias.

En un sistema ejemplar para expresión recombinante de un anticuerpo biespecífico como se describe en la presente, un

vector de expresión recombinante que codifica ambos de los polipéptidos en el anticuerpo biespecífico se introduce en células *dhfr*⁻ CHO mediante transfección mediada por fosfato de calcio. Dentro del vector de expresión recombinante, los

5 ácidos nucleicos que codifican los dos polipéptidos se ligan operablemente a elementos regulatorios potenciadores/promotores (*por ejemplo*, derivados de SV40, CMV, adenovirus y similares, tal como un elemento regulatorio potenciador CMV/promotor AdMLP o un elemento regulatorio

10 potenciador SV40/promotor AdMLP) para manejar altos niveles de transcripción de los genes. El vector de expresión recombinante también porta un gene DHFR, que permite la selección de células CHO que se han transfectado con el vector usando selección/amplificación de metotrexato. Las

15 células hospederas transformantes seleccionadas se cultivan para permitir la expresión de dos polipéptidos. La molécula tetramérica formada se puede recuperar del medio de cultivo. Otro sistema ejemplar para la expresión recombinante es describe en el Ejemplo 2.

20 Las técnicas de biología molecular estándar se usan para preparar el vector de expresión recombinante, transfectar las células hospederas, seleccionar para los transformantes, cultivar las células hospederas y recuperar el anticuerpo del medio de cultivo. Por ejemplo, algunos anticuerpos se pueden

aislar mediante cromatografía de afinidad con una Proteína A o Proteína G acoplada a la matriz.

Utilidades de los Anticuerpos Biespecíficos

Los anticuerpos biespecíficos o los ácidos nucleicos
5 codificados o los conjuntos de ácido nucleico descritos en la presente se pueden usar para propósitos de diagnóstico y terapéuticos. También se pueden usar como herramientas de búsqueda en búsquedas básicas y búsquedas terapéuticas.

(i) Composiciones Farmacéuticas

10 El anticuerpo biespecífico (o los ácidos nucleicos codificados o conjuntos de ácidos nucleicos) como se describe en la presente se puede mezclar con un portador farmacéuticamente aceptable (excipiente), incluyendo solución amortiguadora, para formar una composición farmacéutica para
15 usarse en el tratamiento de una enfermedad objetivo. "Aceptable" quiere decir que el portador debe ser compatible con el ingrediente activo de la composición (y preferiblemente, capaz de estabilizar el ingrediente activo) y no perjudicial para el sujeto a tratar. Los excipientes
20 farmacéuticamente aceptables (portadores) que incluyen soluciones amortiguadoras, los cuales son muy bien conocidos en la técnica. Ver, por ejemplo, Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover.

Las composiciones farmacéuticas para usarse en los presentes métodos pueden comprender portadores farmacéuticamente aceptables, excipientes, o estabilizadores en la forma de formulaciones liofilizadas o soluciones acuosas. (Remington: The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. (2000) Lippincott Williams and Wilkins, Ed. K. E. Hoover). Los portadores, excipientes, o estabilizadores aceptables son no tóxicos a los recipientes en las dosificaciones y concentraciones usadas, y pueden comprender soluciones amortiguadoras tales como fosfato, citrato y otros ácidos orgánicos; antioxidantes que incluyen ácido ascórbico y metionina; conservantes (tal como cloruro de octadecildimetilbencil amonio; cloruro de hexametonio; cloruro de benzalconio, cloruro de bencetonio; fenol, butilo o alcohol bencílico; alquilparabenos tales como metil o propilparabeno; Catecol; resorcinol; ciclohexanol; 3-pentanol; y m-cresol); bajo peso molecular (menos que aproximadamente 10 residuos) polipéptidos; proteínas, tales como albúmina sérica, gelatina o inmunoglobulinas; polímeros hidrófilos tales como polivinilpirrolidona; aminoácidos tales como glicina, glutamina, asparagina, histidina, arginina o lisina; Monosacáridos, disacáridos y otros carbohidratos incluyendo glucosa, manosa o dextranos; agentes quelantes tales como EDTA; azucres tales como sacarosa, manitol,

trehalosa o sorbitol; iones de formación de sales tales como sodio; complejos de metal (por ejemplo complejos de proteína Zn); y/o agentes tensoactivos no iónicos tales como TWEEN™, PLURONICS™ o polietilenglicol (PEG).

5 En algunos ejemplos, la composición farmacéutica descrita en la presente comprende liposomas que contienen el anticuerpo biespecífico, el cual se puede preparar mediante los métodos conocidos en la técnica, tal como se describe en Epstein, y colaboradores, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 82:3688
10 (1985); Hwang, y colaboradores, Proc. Natl. Acad. Sci. USA 77:4030 (1980); y Patentes de los Estados Unidos con Nos. 4,485,045 y 4,544,545. Los liposomas con mayor tiempo de circulación se describen en la Patente de los Estados Unidos con No. 5,013,556. Los liposomas particularmente útiles se
15 pueden generar mediante el método de evaporación de fase inversa con una composición de lípido que comprende fosfatidilcolina, colesterol y fosfatidiletanolamina derivatizada de PEG (PEG-PE). Los liposomas se extruyen a través de filtros de tamaño de poro definido para producir
20 liposomas con el diámetro deseado.

El anticuerpo biespecífico, o el ácido(s) nucleico codificado, también se puede atrapar en microcápsulas preparadas, por ejemplo, por técnicas de coacervación o por polimerización interfacial, por ejemplo, hidroximetilcelulosa

o microcápsulas de gelatina y microcápsulas de poli (metilmetacrilato), respectivamente, en sistemas de suministro de fármaco coloidales (por ejemplo, liposomas, microesferas de albumina, microemulsiones, nanopartículas y nanocápsulas) o en microemulsiones. Tales técnicas son conocidos la técnica, ver, *por ejemplo*, Remington, The Science and Practice of Pharmacy 20th Ed. Mack Publishing (2000).

En otros ejemplos, la composición farmacéutica descrita en la presente se puede formular en un formar de liberación sostenida. Ejemplos adecuados de preparaciones de liberación sostenida incluyen matrices semipermeables de polímeros hidrófobos sólidos que contienen el anticuerpo, que las matrices están en la forma de artículos formados, por ejemplo películas o microcápsulas. Ejemplos de matrices de liberación sostenida incluyen poliésteres, hidrogeles (por ejemplo, poli(2-hidroxietil-metacrilato), o poli (alcohol vinílico)), polilactidos (Patente de los Estados Unidos con No. 3,773,919), copolímeros de ácido L-glutámico y 7-etil-L-glutamato, etileno-acetato de vinilo no degradable, copolímeros de ácido láctico-ácido glicólico degradables tal como LUPRON DEPOT™ (microesferas inyectables compuestas de copolímero de ácido láctico-ácido glicólico y acetato de leuprolida), sacarosa acetato isobutirato y ácido poli-D-(-)-

3-hidroxibutírico.

Las composiciones farmacéuticas para usarse en administración in vivo deben ser estériles. Esto se logra fácilmente mediante, por ejemplo, filtración a través de
5 membranas de filtración estériles. Las composiciones de anticuerpo terapéuticas se colocan de manera general en un recipiente que tiene un puerto de acceso estéril, por ejemplo, una bolsa de solución intravenosa o vial que tiene un tapón que se puede perforar por una aguja de inyección
10 hipodérmica.

Las composiciones farmacéuticas descritas en la presente pueden estar en formas de dosificación unitaria tales como comprimidos, píldoras, cápsulas, polvos, granuloso, soluciones o suspensiones, o supositorios, para
15 administración oral, parenteral o rectal o administración por inhalación o insuflación. Para preparar composiciones sólidas tales como comprimidos, el ingrediente activo principal se puede mezclar con un portador farmacéutico, por ejemplo ingredientes de formación de comprimidos convencionales tales
20 como almidón de maíz, lactosa, sacarosa, sorbitol, talco, ácido esteárico, estearato de magnesio, fosfato dicálcico o gomas y otros diluyentes farmacéuticos, por ejemplo agua, para formar una composición pre-formulación sólida que contiene una mezcla homogénea de un compuesto de la presente

invención o una sal farmacéuticamente aceptable no toxica de la misma. Cuando se hace referencia a estas composiciones de pre-formulación como homogéneas, quiere decir que este ingrediente activo se dispersa uniformemente en toda la

5 composición para que la composición se pueda sub-dividir fácilmente en formas de dosificación unitarias igualmente eficaces tales como comprimidos, píldoras y cápsulas. Después, esta composición de pre-formulación sólida se subdivide en formas de dosificación unitarias del tipo descrito

10 anteriormente que contienen de 0.1 a aproximadamente 500 mg del ingrediente activo de la presente invención. Los comprimidos o píldoras de la nueva composición se pueden recubrir o de otra manera preparar para proporcionar una forma de dosificación con la ventaja de una acción

15 prolongada. Por ejemplo, el comprimido o la píldora pueden comprender un componente de dosificación interna y de dosificación externa, estando esta última en la forma de una envoltura sobre el primero. Los dos componentes se pueden separar mediante una capa entérica que sirve para resistir

20 desintegración en el estómago y permite que el componente interno pase intacto al duodeno o que se retrase en la liberación. Se pueden usar una variedad de materiales para tales capas entéricas o recubrimientos, tales materiales incluyen un número de ácidos poliméricos y mezclas de ácidos

poliméricos con tales materiales como goma laca, alcohol cetílico y acetato de celulosa.

Los agentes tensoactivos adecuados incluyen, en particular, agentes no iónicos, tal como polioxietilenosorbitanos (por ejemplo Tween^{MR} 20, 40, 60, 80 o 85) y otros sorbitans (por ejemplo Span^{MR} 20, 40, 60, 80 o 85). Las composiciones con un agente tensoactivo convenientemente comprende entre 0.05 y 5% de agente tensoactivo, y puede ser entre 0.1 y 2.5%. Se apreciará que otros ingredientes se pueden agregar, por ejemplo manitol u otros vehículos farmacéuticamente aceptables, si es necesario.

Emulsiones adecuadas se pueden preparar usando emulsiones de grasa comercialmente disponibles, tales como Intralipid^{MR}, Liposyn^{MR}, Infonutrol^{MR}, Lipofundin^{MR} y Lipiphysan^{MR}. El ingrediente activo se puede ya sea disolver en una en una composición de emulsión pre-mezclada o alternativamente se puede disolver en un aceite (por ejemplo aceite de soya, aceite de cártamo, aceite de semilla de algodón, aceite de ajonjolí, aceite de maíz o aceite de almendras) y una emulsión formada al mezclarse con un fosfolípido (por ejemplo fosfolípidos de huevo, fosfolípidos de soya o lecitina de soya) y agua. Se apreciará que otros ingredientes se pueden agregar, por ejemplo, glicerol o

glucosa, para ajustar la tonicidad de la emulsión. Las emulsiones adecuadas contendrán típicamente hasta 20% de aceite, por ejemplo, entre 5 y 20%. La emulsión de grasa puede comprender gotitas de grasas entre 0.1 y 1.0 μm , particularmente 0.1 y 0.5 μm y tiene un pH en el intervalo de 5.5 a 8.0.

Las composiciones de emulsión pueden ser aquellas preparadas al mezclar un anticuerpo bispecífica con Intralipid^{MR} o los componentes del mismo (aceite de soya, fosfolípidos de huevo, glicerol y agua).

Las composiciones farmacéuticas para inhalación o insuflación incluyen soluciones y suspensiones en solventes acuosos u orgánicos farmacéuticamente aceptables, o mezclas de los mismos y polvos. Las composiciones líquidas o sólidas pueden contener excipientes farmacéuticamente aceptables como se mencionó anteriormente. En algunas modalidades, las composiciones se administran por la ruta respiratoria oral o nasal para efecto local o sistémico.

Las composiciones en solventes farmacéuticamente aceptables estériles se pueden nebulizar mediante el uso de gases. Las soluciones nebulizadas se pueden respirar directamente del dispositivo nebulizador o el dispositivo nebulizador se puede unir a una máscara, tienda de campaña o máquina de respiración de presión positiva intermitente. Las

composiciones de solución, suspensión o de polvo se pueden administrar, preferiblemente oral o nasalmente, de dispositivos que suministran la formulación en una manera apropiada.

5 **(ii) Tratamiento de enfermedades**

Los anticuerpos biespecíficos (o los ácidos nucleicos codificados o conjuntos de ácido nucleico) descritos en la presente son útiles para tratar una enfermedad o trastornos asociados con uno o ambos de los antígenos a los cuales el
10 anticuerpo biespecífico se une. Por ejemplo, si el anticuerpo biespecífico es capaz de unirse a y bloquear la actividad de pKal y FXIIa, se puede usar para tratar enfermedades asociadas con desregulación del sistema de activación de contacto, por ejemplo, HAE y trombosis.

15 La HAE (incluyendo HAE Tipo I, Tipo II, y Tipo III) es un trastorno caracterizado por episodios recurrentes de hinchamiento severo en, por ejemplo, las extremidades, la cara, el tracto intestinal y las vías respiratorias. La HAE se puede desencadenar por un trauma menor o el estrés. La
20 hinchazón del tracto intestinal debido a un ataque de HAE puede causar dolor abdominal intenso, náuseas y vómitos. La hinchazón de las vías respiratorias puede restringir la respiración y provocar una obstrucción de las vías respiratorias que amenaza la vida.

La trombosis (*por ejemplo*, trombosis venosa o trombosis arterial) se refiere a la formación de coágulos de sangre dentro de un vaso sanguíneo, que puede obstruir el flujo de la sangre a través del sistema de circulación. La trombosis
5 puede incluir trombosis asociada con fibrilación arterial, DVT, embolia pulmonar, apoplejía u otros eventos trombóticos arteriales o venosos.

Para practicar el método descrito en la presente, una cantidad eficaz de la composición farmacéutica descrita
10 anteriormente se puede administrar a un sujeto (*por ejemplo*, un humano) en necesidad del tratamiento vía una ruta adecuada, tal como administración intravenosa, por ejemplo, como un bolo o por infusión continua durante un período de tiempo, por rutas intramuscular, intraperitoneal,
15 intracerebrospinal, subcutánea, intra-articular, intrasínovial, intratecal, oral, inhalación o tópicas. Los nebulizadores comercialmente disponibles para formulaciones líquidas, incluyendo nebulizadores de chorro y nebulizadores ultrasónicos son útiles para la administración. Las
20 formulaciones líquidas se pueden nebulizar directamente y el polvo liofilizado se puede nebulizar después de reconstitución. De manera alternativa, los anticuerpos biespecíficos como se describen en la presente se pueden aerolizar usando una formulación de fluorocarbono y un

inhalador de dosis medida o inhalarse como un polvo liofilizado y molido.

El sujeto a ser tratado por estos métodos descritos en la presente puede ser un mamífero, más preferiblemente un humano. Los mamíferos incluyen, pero no se limitan a, animales de campo, animales de deporte, animales domésticos, primates, caballos, perros, gatos, ratones y ratas. Un sujeto humano quien necesita el tratamiento puede ser un paciente humano que tiene, en riesgo o sospechoso de tener una enfermedad/trastorno objetivo, tal como HAE o trombosis. En algunas modalidades, la trombosis se asocia con fibrilación atrial, trombosis venosa profunda (DVT), embolia pulmonar, apoplejía, o un evento trombótico arterial o venoso. Un sujeto que tiene una enfermedad o trastorno objetivo se puede identificar mediante examinación médica rutinaria, por ejemplo, estudios de laboratorio, pruebas funcionales de órganos, escaneos CT o ultrasonidos. Un sujeto sospechoso de tener cualquiera de la enfermedad/trastorno objetivo puede mostrar uno o más síntomas de la enfermedad/trastorno. Un sujeto en riesgo de la enfermedad/trastorno puede ser un sujeto que tiene uno o más de los factores de riesgo para la enfermedad/trastorno.

Una "cantidad eficaz" como se usa en la presente se refiere a la cantidad de cada agente activo requerido para

conferir el efecto terapéutico en el sujeto, ya sea solo o en combinación con uno o más agentes activos. Las cantidades eficaces varían, reconocido por las personas expertas en la técnica, dependiendo en la condición particular a tratarse, la gravedad de la condición, los parámetros del paciente individuales que incluyen edad, condición física, tamaño, género y peso, la duración del tratamiento, la naturaleza de terapia concurrente (si lo hay), la ruta específica de administración y factores similares dentro del conocimiento y experiencia del médico. Estos factores son muy bien conocidos a aquellos expertos ordinarios en la técnica y se pueden abordar con nada más que la experimentación rutinaria. Se prefiere de manera general que se use una dosis máxima de los componentes individuales o combinaciones de los mismos, eso es, la dosis segura más alta según el juicio médico sólido. Se entenderá por aquellos expertos ordinarios en la técnica, sin embargo, que un paciente puede insistir sobre una dosis más baja o tolerable por razones médicas, razones fisiológicas o por prácticamente cualquier otra razón.

Las consideraciones empíricas, tal como media vida, generalmente contribuirán a la determinación de la dosificación. Por ejemplo, anticuerpos que son compatibles con el sistema inmunitario humano, tal como anticuerpos humanizados o anticuerpos completamente humanos, se pueden

usar para prolongar la media vida del anticuerpo y para prevenir que el anticuerpo sea atacado por el sistema inmunitario del hospedero. La frecuencia de administración se puede determinar y ajustar durante el curso de la terapia, y
5 es de manera general, pero no necesariamente, con base en el tratamiento y/o supresión y/o mejoramiento y/o retraso de una enfermedad/trastorno objetivo. De manera alternativa, las formulaciones de liberación continua sostenida de un anticuerpo biespecífico pueden ser apropiadas. Varias
10 formulaciones y dispositivos para lograr la liberación sostenida se conocen en la técnica.

En un ejemplo, las dosificaciones para un anticuerpo biespecífico como se describe en la presente se pueden determinar empíricamente en individuos quienes se les ha dado
15 una o más administraciones del anticuerpo. A los individuos se les administra dosis incrementales del antagonista. Para evaluar la eficacia del antagonista, se puede seguir un indicador de la enfermedad/trastorno.

De manera general, para la administración de cualquiera
20 de los anticuerpos descritos en la presente, una dosificación candidata inicial puede ser de aproximadamente 2 mg/kg. Para el propósito de la presente descripción, una dosificación típica diaria puede variar de aproximadamente cualquiera de 0.1 µg/kg a 3 µg/kg a 30 µg/kg a 300 µg/kg a 3 mg/kg, a 30

mg/kg a 100 mg/kg o más, dependiendo en los factores antes mencionados. Para administraciones repetidas durante varios días o más, dependiendo de la condición, el tratamiento se mantiene hasta que se produce una supresión deseada de los
5 síntomas o hasta que se alcanzan niveles terapéuticos suficientes para aliviar una enfermedad o trastorno objetivo, o un síntoma del mismo. Un régimen de dosificación ejemplar comprende administrar una dosis inicial de aproximadamente 2 mg/kg, seguido de una dosis de mantenimiento semanal de
10 aproximadamente 1 mg/kg del anticuerpo, o seguido de una dosis de mantenimiento semanal de aproximadamente 1 mg/kg cualquier otra semana. Sin embargo, otros regímenes de dosificación pueden ser útiles, dependiendo en los patrones de la descomposición farmacocinética que el profesional desea
15 lograr. Por ejemplo, se contempla la dosificación de una a cuatro veces por semana. En algunas modalidades, se puede usar la dosificación que varía de aproximadamente 3 µg/mg a aproximadamente 2 mg/kg (tal como aproximadamente 3 µg/mg, aproximadamente 10 µg/mg, aproximadamente 30 µg/mg,
20 aproximadamente 100 µg/mg, aproximadamente 300 µg/mg, aproximadamente 1 mg/kg, and aproximadamente 2 mg/kg). En algunas modalidades, la frecuencia de dosificación es una vez a la semana, cada 2 semanas, cada 4 semanas, cada 5 semanas, cada 6 semanas, cada 7 semanas, cada 8 semanas, cada 9

semanas, o cada 10 semanas; o una vez al mes, cada 2 meses, o cada 3 meses o más tiempo. El progreso de esta terapia se monitorea fácilmente por técnicas convencionales y ensayos. El régimen de dosificación (incluyendo el anticuerpo usado) puede variar con el tiempo.

En algunas modalidades, para un paciente adulto de peso normal, las dosis que varían de aproximadamente 0.3 a 5.00 mg/kg se pueden administrar. El régimen de dosificación particular, es decir, dosis, tiempo y repetición, dependerá en el individuo particular y el historial médico del individuo, como también las propiedades de los agentes individuales (tal como media vida del agente y otras consideraciones muy bien conocidas en la técnica).

Para los propósitos de la presente descripción, la dosificación apropiada de un anticuerpo biespecífico como se describe en la presente dependerá en el anticuerpo específico (o composición del mismo) empleado, el tipo y gravedad de la enfermedad/trastorno, si el anticuerpo se administra para propósitos de prevención o terapéuticos, terapias anteriores, el historial clínico del paciente y respuesta al antagonista, y la discreción del médico que lo atiende. Típicamente el medico administrará un anticuerpo biespecífico, hasta que se alcance la dosificación que logra el efecto deseado. La administración de uno o más anticuerpos biespecíficos puede

ser continua o intermitente, dependiendo, por ejemplo, en la condición fisiológica del receptor, si el propósito de la administración es terapéutico o profiláctico y otros factores conocidos por los profesionales calificados. La
5 administración de un anticuerpo biespecífico puede ser esencialmente continua durante un periodo de tiempo preseleccionado o puede estar en una serie de dosis espaciadas, por ejemplo, antes, durante o después de desarrollar una enfermedad o trastorno objetivo.

10 Como se usa en la presente, el término "tratar" se refiere a la aplicación o administración de una composición que incluye uno o más agentes activos a un sujeto, quien tiene una enfermedad o trastorno objetivo, un síntoma de la enfermedad/trastorno, o una predisposición hacia la
15 enfermedad/trastorno, con el propósito de curar, sanar, aliviar, alterar, remediar, mejorar, o afectar el trastorno, el síntoma de la enfermedad o la predisposición hacia la enfermedad o trastorno.

Aliviar una enfermedad/trastorno objetivo incluye
20 retrasar el desarrollo o progreso de la enfermedad, o reducir la gravedad de la enfermedad. Aliviar la enfermedad no requiere necesariamente resultados curativos. Como se usa en la presente, "retrasar" el desarrollo de una enfermedad o trastorno objetivo quiere decir aplazar, demorar, alentar,

retardar, estabilizar, y/o posponer la progreso de la enfermedad. Este retraso puede ser de diferentes longitudes de tiempo, dependiendo en la historia de la enfermedad y/o individuos en tratamiento. Un método que "retrasa" o alivia
5 el desarrollo de una enfermedad, o retrasa el inicio 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 el grado de los síntomas en un marco de tiempo, en comparación al no usar el método. Tales
10 comparaciones se basan típicamente en estudios clínicos, usando un número de sujetos suficiente para dar un resultado estadísticamente significativo.

El "desarrollo" o "progreso" de una enfermedad quiere decir manifestaciones iniciales y/o progreso consiguiente de
15 la enfermedad. El desarrollo de la enfermedad se puede detectar y evaluarse usando técnicas clínicas estándar muy bien conocidas en la técnica. Sin embargo, el desarrollo también se refiere al progreso que puede ser no detectable. Para propósitos de esta descripción, el desarrollo o progreso
20 se refiere al curso biológico de los síntomas. El "desarrollo" incluye ocurrencia, recurrencia e inicio. Como se usa en la presente "inicio" u "ocurrencia" de una enfermedad o trastorno objetivo incluye comienzo inicial y/o recurrencia.

En algunas modalidades, el anticuerpo biespecífico descrito en la presente se administra a un sujeto en necesidad del tratamiento en una cantidad suficiente para inhibir la actividad de uno o ambos antígenos objetivo por al menos 20% (por ejemplo, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o mayor) in vivo. En otras modalidades, el anticuerpo se administra en una cantidad eficaz en reducir el nivel de uno o ambos de los antígenos objetivo por al menos 20% (por ejemplo, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% o mayor).

Los métodos convencionales, conocidos por expertos ordinarios en la técnica de medicina, se pueden usar para administrar la composición farmacéutica al sujeto, dependiendo en el tipo de enfermedad a ser tratada o el sitio de la enfermedad. Esta composición también se puede administrar mediante otras rutas convencionales, por ejemplo, administrarse oralmente, parenteralmente, por rocío de inhalación, tópicamente, rectalmente, nasalmente, bucalmente, vaginalmente o a través de un depósito implantado. El término "parenteral" como se usa en la presente incluye inyección subcutánea, intracutánea, intravenosa, intramuscular, intraarticular, intraarterial, intrasinovial, intrasternal, intratecal, intralesional e intracraneal o técnicas de infusión. Además, se puede administrar al sujeto vía rutas de depósito inyectable de administración tal como usando

materiales y métodos inyectables o biodegradables de 1, 3 o 6 meses de depósito.

Las composiciones inyectables pueden contener varios portadores tales como aceites vegetales, dimetilacetamida, 5 dimetilformamida, lactato de etilo, carbonato de etilo, miristato de isopropilo, etanol y polioles (glicerol, propilenglicol, polietilenglicol líquido, y similares). Para inyección intravenosa, anticuerpos solubles en agua se pueden administrar por el método de goteo, con lo que se infunde una 10 formulación farmacéutica que contiene el anticuerpo y un excipiente fisiológicamente aceptable. Los excipientes fisiológicamente aceptables incluyen, por ejemplo, 5% de dextrosa, 0.9% de salina, solución de Ringer u otros excipientes adecuados. Las preparaciones intramusculares, por 15 ejemplo, una formulación estéril de una forma de sal soluble adecuada del anticuerpo se puede disolver y administrarse en un excipiente farmacéutico tal como Agua para inyección, 0.9% de o 5% de solución de glucosa.

En una modalidad, un anticuerpo biespecífico se 20 administra mediante técnicas de suministro de sitio específico o dirigido local. Ejemplo de técnicas de suministro de sitio específico o dirigido local incluyen varias fuentes de depósito que se puede implantar del anticuerpo biespecífico o catéteres de suministro local, tal

como catéteres de infusión, un catéter uretral permanente, o un catéter de ajuga, injertos sintéticos, envolturas adventicias, cortocircuitos y endoprótesis vasculares u otros dispositivos que se pueden implantar, portadores de sitio
5 específico, inyección directa o aplicación directa. Ver, por ejemplo, Publicación de PCT con No. WO 00/53211 y Patente de los Estados Unidos con No. 5,981,568.

También se puede usar el suministro dirigido de composiciones terapéuticas que contienen un polinucleótido
10 antisentido, vector de expresión, o polinucleótidos subgenómicos. Las técnicas de administración de ADN mediadas por receptor se describen en, por ejemplo, Findeis y colaboradores, Trends Biotechnol. (1993) 11:202; Chiou y colaboradores, Gene Therapeutics: Methods And Applications Of
15 Direct Gene Transfer (J. A. Wolff, ed.) (1994); Wu y colaboradores, J. Biol. Chem. (1988) 263:621; Wu y colaboradores, J. Biol. Chem. (1994) 269:542; Zenke y colaboradores, Proc. Natl. Acad. Sci. USA (1990) 87:3655; Wu y colaboradores, J. Biol. Chem. (1991) 266:338.

20 Las composiciones terapéuticas que contienen un polinucleótido (por ejemplo, aquellos que codifican los anticuerpos biespecíficos descritos en la presente) se administran en un intervalo de aproximadamente 100 ng a aproximadamente 200 mg de ADN para administración local en un

protocolo de terapia génica. En algunas modalidades, los intervalos de concentración de aproximadamente 500 ng a aproximadamente 50 mg, aproximadamente 1 µg a aproximadamente 2 mg, aproximadamente 5 µg a aproximadamente 500 µg, y
5 aproximadamente 20 µg a aproximadamente 100 µg de ADN o más también se puede usar durante un protocolo de terapia génica.

Los polinucleótidos terapéuticos y polipéptidos descritos en la presente se pueden suministrar usando vehículos de suministro de genes. El vehículo de suministro
10 de genes puede ser de origen viral o no viral (ver de manera general, Jolly, Cancer Gene Therapy (1994) 1:51; Kimura, Human Gene Therapy (1994) 5:845; Connelly, Human Gene Therapy (1995) 1:185; y Kaplitt, Nature Genetics (1994) 6:148). La expresión de tales secuencias de codificación se puede
15 inducir usando promotores y/o potenciadores endógenos de mamíferos o heterólogos. La expresión de la secuencia de codificación puede ser ya sea constitutiva o regulada.

Los vectores basados de viral para el suministro de un polinucleótido deseado y la expresión en una célula deseada
20 son muy bien conocidos en la técnica. Ejemplos de vehículos basados de viral incluyen, pero no se limitan a, retrovirus recombinante (ver, por ejemplo, Publicaciones de PCT con No. WO 90/07936; WO 94/03622; WO 93/25698; WO 93/25234; WO 93/11230; WO 93/10218; WO 91/02805; Patentes de los Estados

Unidos con Nos. 5,219,740 y 4,777,127; Patente de GB con No. 2,200,651; y Patente de EP con No. 0 345 242), vectores basados en alfavirus (por ejemplo, vectores del virus Sindbis, virus Semliki forest (ATCC VR-67; ATCC VR-1247),
5 virus Ross River (ATCC VR-373; ATCC VR-1246) y virus de la encefalitis equina venezolana (ATCC VR-923; ATCC VR-1250; ATCC VR 1249; ATCC VR-532)), y vectores del virus asociado a adeno (AAV) (ver, por ejemplo, Publicaciones de PCT con Nos. WO 94/12649, WO 93/03769; WO 93/19191; WO 94/28938; WO
10 95/11984 and WO 95/00655). También se puede emplear la administración de ADN ligado a adenovirus eliminado como se describe en Curiel, Hum. Gene Ther. (1992) 3:147.

Los vehículos de suministro no virales y métodos también se pueden emplear, incluyendo, pero no se limitan a, ADN
15 condensado policatiónico ligado o no ligado para eliminar solo adenovirus (ver, por ejemplo, Curiel, Hum. Gene Ther. (1992) 3:147); ADN unido a ligando (ver, por ejemplo, Wu, J. Biol. Chem. (1989) 264:16985); células de vehículos de suministro de células eucarióticas (ver, por ejemplo, Patente
20 de los Estados Unidos con No. 5,814,482; Publicaciones de PCT Nos. WO 95/07994; WO 96/17072; WO 95/30763; y WO 97/42338) y neutralización de carga nucleica o fusión con membranas celulares. También se puede emplear el ADN desnudo. Los métodos ejemplares de introducción de ADN desnudo se

describen en la Publicación de PCT con No. WO 90/11092 y Patente de los Estados Unidos con No. 5,580,859. Los liposomas que pueden actuar como vehículos de administración génica se describen en Patente de los Estados Unidos con No. 5,422,120; Publicaciones de PCT con Nos. WO 95/13796; WO 94/23697; WO 91/14445; y Patente de EP con No. 0524968. Enfoques adicionales se describen en Philip, Mol. Cell. Biol. (1994) 14:2411 y en Woffendin, Proc. Natl. Acad. Sci. (1994) 91:1581.

El régimen de dosificación particular, es decir, dosis, tiempo y repetición, usado en el método descrito en la presente dependerá en el sujeto particular y el historial médico del sujeto. En algunas modalidades, más de un anticuerpo biespecífico, o una combinación de un anticuerpo biespecífico y otro agente terapéutico adecuado, se puede administrar a un sujeto en necesidad del tratamiento. El anticuerpo biespecífico también se puede usar en conjunto con otros agentes que sirven para potenciar y/o complementar la eficacia de los agentes.

La eficiencia del tratamiento para una enfermedad/trastorno objetivo se puede evaluar mediante métodos muy bien conocidos en la técnica.

Kits para usarse en el Tratamiento de Enfermedades Objetivo

La presente descripción también proporciona kits para usarse

en el alivio de enfermedades y trastornos objetivo. Tales kits pueden incluir uno o más recipientes que comprenden uno o más de los anticuerpos biespecíficos y/o uno o más de los ácidos nucleicos aislados o conjuntos de ácido nucleico
5 descritos en la presente.

En algunas modalidades, el kit puede comprender instrucciones para usarse de acuerdo con cualquiera de los métodos descritos en la presente. Las instrucciones incluidas comprenden una descripción de la administración del
10 anticuerpo biespecífico para tratar, retrasar el inicio, o aliviar una enfermedad objetivo tal como HAE o trombosis. El kit además puede comprender una descripción de la selección de un individuo adecuado para el tratamiento con base en la identificación si ese individuo tiene la enfermedad objetivo.
15 Todavía en otras modalidades, las instrucciones comprenden una descripción de administrar un anticuerpo a un individuo en riesgo de la enfermedad objetivo.

Las instrucciones que se relacionan al uso de un anticuerpo biespecífico como se describe en la presente de
20 manera general incluyen información como la dosificación, horario de dosificación y ruta de administración para el tratamiento deseado. Los recipientes pueden ser dosis unitarias, paquetes a granel (*por ejemplo*, paquetes de múltiples dosis) o dosis sub-unitarias. Las instrucciones

contenidas en los kits de la invención son instrucciones típicamente por escrito en una etiqueta o inserto de paquete (*por ejemplo*, una hoja de papel incluida en el kit), pero las instrucciones legibles por máquina (*por ejemplo*,
5 instrucciones transportadas en un disco de almacenamiento magnético u óptico) también son aceptables.

La etiqueta o el inserto de paquete indica que la composición se usa para tratar, retrasar el inicio y/o aliviar una enfermedad o trastorno objetivo. Las
10 instrucciones se pueden proporcionar para practicar cualquiera de los métodos descritos en la presente.

Los kits de esta invención están en empaquetamiento adecuado. El empaquetado adecuado incluye, pero no se limita a, viales, botellas, frascos, empaquetado flexible (*por ejemplo*, mylar sellado o bolsas de plástico) y similares.
15 También se contemplan paquetes para usarse en combinación con un dispositivo específico, tal como un inhalador, dispositivo de administración nasal (*por ejemplo*, un atomizador) o un dispositivo de infusión tal como una mini bomba. Un kit puede
20 tener un puerto de acceso estéril (*por ejemplo*, el recipiente puede ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón que se puede perforar por una aguja de inyección hipodérmica). El recipiente también puede tener un puerto de acceso estéril (*por ejemplo*, el recipiente puede

ser una bolsa de solución intravenosa o un vial que tiene un tapón que se puede perforar por una aguja de inyección hipodérmica). Al menos un agente activo en la composición es un anticuerpo biespecífico como aquellos descritos en la presente.

Los kits pueden proporcionar de manera opcional componentes adicionales tales como soluciones amortiguadoras e información interpretativa. Normalmente, el kit comprende un recipiente y una etiqueta o inserto de paquete en o asociado con el recipiente. En algunas modalidades, la invención proporciona artículos de fabricación que comprenden contenidos de los kits descritos anteriormente.

Técnicas Generales

La práctica de la presente invención empleará, a menos que se indique lo contrario, técnicas convencionales de biología molecular (incluyendo técnicas recombinantes), microbiología, biología celular, bioquímica e inmunología, los cuales están dentro de la experiencia de la técnica. Tales técnicas se explican completamente en la literatura, tal como, clonación Molecular: A Laboratory Manual, segunda edición (Sambrook, y colaboradores, 1989) Cold Spring Harbor Press; Oligonucleotide Synthesis (M. J. Gait, ed., 1984); Methods in Molecular Biology, Humana Press; Cell Biology: A Laboratory Notebook (J. E. Cellis, ed., 1998) Academic Press; Animal

Cell Culture (R. I. Freshney, ed., 1987); Introduction to Cell and Tissue Culture (J. P. Mather and P. E. Roberts, 1998) Plenum Press; Cell and Tissue Culture: Laboratory Procedures (A. Doyle, J. B. Griffiths, and D. G. Newell, 5 eds., 1993-8) J. Wiley and Sons; Methods in Enzymology (Academic Press, Inc.); Handbook of Experimental Immunology (D. M. Weir and C. C. Blackwell, eds.); Gene Transfer Vectors for Mammalian Cells (J. M. Miller and M. P. Calos, eds., 1987); Current Protocols in Molecular Biology (F. M. Ausubel, 10 y colaboradores, eds., 1987); PCR: The Polymerase Chain Reaction, (Mullis, y colaboradores, eds., 1994); Current Protocols in Immunology (J. E. Coligan y colaboradores, eds., 1991); Short Protocols in Molecular Biology (Wiley and Sons, 1999); Immunobiology (C. A. Janeway and P. Travers, 1997); 15 Antibodies (P. Finch, 1997); Antibodies: a practical approach (D. Catty., ed., IRL Press, 1988-1989); Monoclonal antibodies: a practical approach (P. Shepherd and C. Dean, eds., Oxford University Press, 2000); Using antibodies: a laboratory manual (E. Harlow and D. Lane (Cold Spring Harbor 20 Laboratory Press, 1999); The Antibodies (M. Zanetti and J. D. Capra, eds., Harwood Academic Publishers, 1995).

Sin elaboración adicional, se cree que uno experto en la técnica puede, con base en la descripción anterior, usar la presente invención en toda su extensión. Por lo tanto, las

siguientes modalidades específicas, se deben construir meramente ilustrativas y no limitativas del resto de la descripción de ninguna manera. Todas las publicaciones citadas en la presente se incorporan a manera de referencia para los propósitos o contenido referenciado en la presente.

Ejemplo 1: Construcción y Caracterización de Anticuerpos Biespecíficos Ejemplares que unen pKal y Factor XIIa

Un número de anticuerpos biespecíficos anti-pKal/anti-FXIIa ejemplares, incluyendo clones X0120-A01, X0120-C01, X0120-E01, X0120-G01, X0121-A03, X0121-C01, X0121-E01, X0121-G01, X0122-A01, y X0122-C01, se construyeron, usando DX-2930 y uno de clones anti-FXIIa 559C-M0071-F06, 559C-M0184-B04, 559C-M0179-D04, 559C-M0181-C02 y 559C-M0180-G03 como el anticuerpo principal. Ver Tabla 2 a continuación:

Tabla 2: Componentes de Anticuerpos Biespecíficos Ejemplares

Clones de Anticuerpos Biespecíficos	Porción anti-pKal	Porción Anti-FXIIa
X0120-A01	DX-2930 (IgG)	scFv del clon 559C-M0184-B04 (H→L) fusionada a la terminal C de la cadena pesada de DX-2930
X0120-C01	DX-2930 (IgG)	scFv del clon 559C-M0184-B04 (L→H) fusionada a la terminal C de la cadena pesada de DX-2930
X0120-E01	DX-2930 (IgG)	scFv del clon 559C-M0179-D04 (H→L) fusionada a la terminal C de la cadena pesada de DX-2930
X0120-G01,	DX-2930 (IgG)	scFv del clon 559C-M0179-D04 (L→H) fusionada a la terminal C

5

10

		de la cadena pesada de DX-2930
X0121-A03	DX-2930 (IgG)	scFv del clon 559C-M0181-C02 (H→L) fusionada a la terminal C de la cadena pesada de DX-2930
X0121-C01	DX-2930 (IgG)	scFv del clon 559C-M0181-C02 (L→H) fusionada a la terminal C de la cadena pesada de DX-2930
X0121-E01	DX-2930 (IgG)	scFv del clon 559C-M0180-G03 (H→L) fusionada a la terminal C de la cadena pesada de DX-2930
X0121-G01	DX-2930 (IgG)	scFv del clon 559C-M0180-G03 (L→H) fusionada a la terminal C de la cadena pesada de DX-2930
X0122-A01,	DX-2930 (IgG)	scFv del clon 559C-M0071-F06 (H→L) fusionada a la terminal C de la cadena pesada de DX-2930
X0122-C01	DX-2930 (IgG)	scFv del clon 559C-M0071-F06 (L→H) fusionada a la terminal C de la cadena pesada de DX-2930

15

Entre los clones anti-FXIIa, 559C-M0071-F06 es un clon precursor, 559C-M0184-B04 se obtiene de maduración de afinidad HCDR1+2, y 559C-M0179-D04, 559C-M0181-C02, y 559C-M0180-G03 son clones obtenidos de la maduración de afinidad de cadena ligera.

20

Todos los clones de anticuerpos biespecíficos ejemplares enlistados en la Tabla 2 anterior son moléculas tetravalentes que comprenden cuatro cadenas de polipéptido, incluyendo dos cadenas de polipéptido de la cadena ligera de DX-2930 (SEQ ID NO:10 proporcionada anteriormente), y dos cadenas de polipéptido de fusión de la cadena pesada de DX-2930

(excluyendo un residuo de lisina en el dominio de bisagra de la cadena constante) fusionada a una cadena scFv de uno de los clones FXIIa. La cadena scFv de cada uno de los 5 clones anti-FXIIa se sintetizó tanto en la orientación Pesada-Ligera (H→L) como orientación Ligera-Pesada (L→H). En todos los ejemplos de las cadenas scFv, se usó un ligador interno (GGGS)₄ (SEQ ID NO:23). La scFvs se construyeron de modo que los clones en la orientación Ligera-Pesada contengan los dos aminoácidos iniciales (RT) que inician la región constante antes del comienzo de la secuencia ligadora. Los clones en la orientación Pesada-Ligera contiene únicamente el primer aminoácido (R) de la región constante ligera antes de los codones de parada.

Las secuencias de aminoácido de los polipéptidos de fusión de cada uno de los anticuerpos biespecíficos ejemplares se proporcionan a continuación:

Clon de anticuerpo biespecífico X0120-A01 fusión de ScFv de Cadena Pesada (SEQ ID NO:11):

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYA
 DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
 GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKRVE
 PKSCDTHCTCPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
 AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLL
 ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS

LRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKTTTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEFASIS
 CRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWT
 FGQGTKVEIKR

Clon de anticuerpo bioespecífico X0120-C01 fusión de ScFv de
 Cadena Pesada (SEQ ID NO:12):

5 **MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLES**GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYA
 DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
 GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE
 PKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
 10 AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMT
 QSPLSLPVTGPGEFASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEA
 EDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLES

Clon de anticuerpo bioespecífico X0120-E01 fusión de ScFv de
 15 Cadena Pesada (SEQ ID NO:13):

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYA
 DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
 GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVE
 PKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
 20 AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLL
 ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS
 LRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKTTTVTVSSGGGSGGGGSGGGGSGGGSDIQMTQSPLSLSVAPGEFASIS
 CRSSQSLLSHRNGHNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPERFSGSGSGTDFTLRISRVEAEDVGVYYCMQALQARTF
 GQGTKVEIKR

Clon de anticuerpo bioespecífico X0120-G01 fusión de ScFv de

Cadena Pesada (SEQ ID NO:14):

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYA
 DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
 GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVE
 PKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 5 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
 AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMT
 QSPLSLSVAPGEPASISCRSSQSLLRNGHNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPERFSGSGSGTDFTLRISRVEA
 EDVGVYYCMQALQARTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGY
 IMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDV
 WGKGTTTVTVSS

10 Clon de anticuerpo bioespecífico X0121-A03 fusión de ScFv de
 Cadena Pesada (SEQ ID NO:15):

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYA
 DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
 GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVE
 15 PKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
 AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSCVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLL
 ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS
 LRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPA
 SISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPRDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTRTF
 20 GQGTKVEIKR

Clon de anticuerpo bioespecífico X0121-C01 fusión de ScFv de
 Cadena Pesada (SEQ ID NO:16):

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYA
 DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
 GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVE

PKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
 AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMT
 QSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA
 EDVGVYYCMQALQTRTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGY
 5 IMAWVRQAPGKGLEWVSYYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDV
 WGKGT TVTVSS

Clon de anticuerpo bioespecífico X0121-E01 fusión de ScFv de
 Cadena Pesada (SEQ ID NO:17):

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYA
 10 DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
 GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVE
 PKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
 AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLL
 ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYYIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS
 15 LRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAIS
 CRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQIMIIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPRT
 FGQGTKVEIKR

Clon de anticuerpo bioespecífico X0121-G01 fusión de ScFv de
 Cadena Pesada (SEQ ID NO:18):

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYA
 20 DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
 GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVE
 PKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
 STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
 AVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMT
 QSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQIMIIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA

EDVGYYCMQALQTPRTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSG
YIMAWVRQAPGKGLEWVSIIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMD
VWGKGTTTVTVSS

Clon de anticuerpo bioespecífico X0122-A01 fusión de ScFv de
Cadena Pesada (SEQ ID NO:19):

5 **MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYA**
DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVE
PKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
10 AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLL
ESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSIIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNS
LRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTTVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPA
CRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGYYCMQALQTPWT
FGQGTKVEIKR

Clon de anticuerpo bioespecífico X0122-C01 fusión de ScFv de
15 Cadena Pesada (SEQ ID NO:20):

MGWSCIILFLVATATGAHSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYA
DSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTS
GGTAALGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDRVE
PKSCDTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYN
STYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDI
20 AVEWESNGQPENNYKTTPVLDSGFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFC SVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMT
QSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEA
EDVGYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSG
YIMAWVRQAPGKGLEWVSIIYPSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMD
VWGKGTTTVTVSS

Para construir el casete de expresión para los

anticuerpos biespecíficos ejemplares descritos anteriormente, la secuencia de codificación para las cadenas pesadas y ligeras de DX-2930 se clonaron en un vector pRh1-CHO, modificado con un ligador SGGGS de terminal C que se conecta
 5 a la secuencia de codificación scFv. La región ligadora contiene un sitio de restricción BamHI para la clonación eficiente de la scFvs. Se seleccionaron cinco clones anti-Factor XIIa para inserción en el constructo mediante sitios de restricción BamHI/XbaI.

10 Las porciones en cursiva de las secuencias proporcionadas con anterioridad se refieren a los péptidos de señal. La porción anti-pKal del anticuerpo biespecífico descrito en la presente puede incluir los mismos péptidos de señal, o puede tener los péptidos de señal eliminados o
 15 remplazados con un diferente péptido de señal. Los péptidos de señal para usarse en la producción de proteínas secretoras son muy bien conocidos en la técnica.

Las secuencias de nucleótido que codifican los anticuerpos biespecíficos (en formato de operón cis-trónico)
 20 se proporcionan a continuación:

X0120-A01 (SEQ ID NO:24)

ATGGGATGGTCCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCC
 CTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCT
 GGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGA
 TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTACCCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTG

CCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGCCGCTCCCTCCGTGT
 TCATCTTCCCACCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAATTCTACCCCCGC
 GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAA
 GGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCTACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAG
 TGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCGA
 5 GCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGCCCCCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGC
 CGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTCCACCATATGCGGTCTTTTGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGT
 CTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAG
 TTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGG
 TGCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCAAGTGCCACGTTGTGAGTTGGAT
 AGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGTATTCACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCATTGTA
 10 TGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
 CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCTGCATCATCTCTGTTTC
 TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCC
 CTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTCACCTTCTCCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGG
 GCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCT
 CTCGGGACAACCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC
 15 TACCGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTC
 CACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTCG
 TCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCCCTGCC
 GTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGACCGTGCCCTCCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACAT
 CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGAACAAGCGGTGGAACCCAAGTCTCTGCGACACCCACACCTGTC
 CCCCTTGCCCTGCCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTCTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATC
 20 TCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGA
 CGGCGTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGA
 CCGTGTGACACAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAA
 AAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAA
 GAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGC
 CCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGAC

AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
CCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGCCTGGTGCAGCCTG
GAGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCTGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCTTCTACAGCATGCACTGGGTCCGACAGGCTCCA
GGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCTACCCCTCTGGCGGCGTGACCAAATACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTT
CACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACT
5 ACTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACAACCGTGACCGTG
TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGAGGCGGCAGCGACATCCAGATGAC
CCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCCTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACA
GCAACGGCTACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAAC
AGAGCCAGCGGCGTGCCCGACAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTCACCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGC
CGAGGACGTGGGCGTGTAATTTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCA
10 AGAGATGAATCTAGA

X0120-C01 (SEQ ID NO:25)

ATGGGATGGTCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCC
CTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGGGCGCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCT
GGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGA
TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCAGTTTACCTTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTG
15 CCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGT
TCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACC GCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGC
GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAA
GGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTTGCAGG
TGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCGA
GCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCCGCCCCCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGC
20 CGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGT
CTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAG
TTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGG
TGCCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCACTGCCACGTTGTGAGTTGGAT
AGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTA
TGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC

CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCCTGCATCATCCTGTTTC
TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCC
CTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTCACCTTCTCCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGG
GCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCT
CTCGGGACAACCTCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC
5 TACCGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTC
CACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCCTGCTCTGGGCTGCCTCG
TCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGATACCTTCCCTGCC
GTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGTGACCGTGCCCTCCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACAT
CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGACAAGCGGGTGGAACCCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTC
CCCCTTGCCCTGCCCTGAACTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCTGTTCCTCCCAAGCCCAAGGACACCTGATGATC
10 TCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGA
CGGCGTGGAAGTGATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGA
CCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAA
AAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAA
GAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGC
CCGAGAACAATAACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATCTTCTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGAC
15 AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
CCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCGTGACAC
CTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACTGGTAT
CTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGCGTGCCCGACAGATTTCAG
CGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGC
AGGCCCTGCAGACCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACAGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGA
20 GGTGGAAGCGGAGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGAGGCGGACTGGTGCAGCC
TGCGCGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCTGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCTTCTACAGCATGCACTGGGTCCGACAGGCCC
CTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCCGGATCTACCCCTCTGGCGGCGTGACCAAATACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGG
TTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTA
CTATTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCACCGTGACCG
TGTCCAGCTGAATCTAGA

X0120-E01 (SEQ ID NO:26)

ATGGGATGGTCCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCC
CTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGGGCCTCCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCT
GGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGA
TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTCACCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTG
5 CCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGACCAAGGTGGAATCAAGCGGACCGTGCCCGCTCCCTCCGTGT
TCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAATTCTACCCCCGC
GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAA
GGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCTACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAG
TGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCGA
GCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGCCCCCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAATAAGGC
10 CGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGT
CTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAG
TTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGG
TGCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCAAGTGCCACGTTGTGAGTTGGAT
AGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTA
TGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
15 CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCTGCATCATCCTGTTTC
TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCC
CTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTACCTTCTCCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGG
GCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCT
CTCGGGACAACCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC
TACCGGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCCTC
20 CACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTCG
TCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCCCTGCC
GTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGACCGTGCCCTCCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACAT
CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGAACAAGCGGTGGAACCCAAGTCTTGCAGACCCACACCTGTCT
CCCCTTGCCCTGCCCTGAACTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTCTTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATC
TCCCGGACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGA

CGGCGTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGA
 CCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAA
 AAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAA
 GAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGC
 CCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGAC
 5 AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
 CCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGAAGTGCAAGTGTGGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTG
 GCGGCTCCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTACCTTCAGCGGCTACATCATGGCCTGGGTCCGACAGGCTCCA
 GGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTTACATCTACCCCAGCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTT
 CACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACT
 ACTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCACCGTGACCGTG
 10 TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGCGGAGGCAGCGACATCCAGATGAC
 CCAGAGCCCCCTGAGCCTGAGCGTGGCACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACC
 GGAACGGCCACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAAC
 AGAGCCAGCGCGTGGCCGAGAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGCGGATCAGCCGGGTGGAAGC
 CGAGGACGTGGGCGTGTACTATTGCATGCAGGCTCTGCAGGCCAGAACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGA
 GATGAATCTAGA
 15 X0120-G01 (SEQ ID NO:27)
 ATGGGATGGTCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCC
 CTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGGGCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCT
 GGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCTCCAGA
 TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTACCCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTG
 CCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGT
 20 TCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCGC
 GAGGCCAAGGTGCAGTGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAA
 GGACAGCACCTACTCCCTGTCCTTACCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAG
 TGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCGA
 GCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGCCCCCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGC
 CCGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGT

CTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAG
 TTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGG
 TGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCACTGCCACGTTGTGAGTTGGAT
 AGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTA
 TGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
 5 CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACAGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCTGCATCATCTGTTC
 TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCC
 CTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTACCTTCTCCCACTACATCATGATGTGGGTGCAGAGGCTCCTGGCAAGGG
 GCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCT
 CTCGGGACAACCTCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC
 TACCGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGACAGGACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTC
 10 CACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTCG
 TCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCCCTGCC
 GTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGTGACCGTGCCCTCCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACAT
 CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGTGGAACCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTC
 CCCCTTGCCCTGCCCTGAACTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTCTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATC
 TCCCGGACCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGA
 15 CGGCGTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGA
 CCGTGTGTCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAA
 AAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAA
 GAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGC
 CCGAGAACAACATAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGAC
 AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
 20 CCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGAGCGTGGCAC
 CTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACCGGAACGGCCACAACCTGGAAGTGGTAT
 CTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGGCGTGCCCGAGAGATTGAG
 CGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGCGGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGC
 AGGCTCTGCAGGCCAGAACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACAGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGAGGT
 GGAAGCGGAGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGG

CGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGGTACATCATGGCCTGGGTCCGACAGGCCCTG
 GCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTACATCTACCCAGCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTC
 ACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTA
 TTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCACCGTGACCGTGT
 CCAGCTGAATCTAGA

5 X0121-A03 (SEQ ID NO:28)

ATGGGATGGTCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCC
 CTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCGGGCCTCCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCT
 GGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGA
 TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTCACCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTG
 CCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACCGTGCGCCGCTCCCTCCGTGT
 10 TCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAATCTTACCCCCGC
 GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAATCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAA
 GGACAGCACCTACTCCCTGTCTCTACCTGACCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAG
 TGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCGA
 GCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGCCCCCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAATAAGGC
 CGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGT
 15 CTCTTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAG
 TTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGG
 TGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGAT
 AGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCCATTTGTA
 TGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
 CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCTGCATCATCCTGTTTC
 20 TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCC
 CTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTCACCTTCTCCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGG
 GCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCT
 CTCGGGACAACCTCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC
 TACCGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCCTC
 CACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCCTGCTCTGGGCTGCCTCG

TCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCCTTGCC
 GTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGACCGTGCCCTCCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACAT
 CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTGAACCCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTC
 CCCCTTGCCCTGCCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTCTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATC
 TCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGA
 5 CGGCGTGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGA
 CCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAA
 AAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAA
 GAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGC
 CCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGAC
 AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCTCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
 10 CCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTG
 GAGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGGCTACATCATGGCCTGGGTCCGACAGGCTCCA
 GGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCTACATCTACCCAGCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTT
 CACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACT
 ACTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCAACCGTGACCGTG
 TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGCGGAGGCAGCGACATCCAGATGAC
 15 CCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCCGTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACA
 GCAACGGCTACAACCTGGAAGTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAAC
 AGAGCCAGCGGCGTGCCCGACAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGC
 CGAGGACGTGGGCGTGTACTATTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGA
 GATGAATCTAGA
 X0121-C01 (SEQ ID NO:29)
 20 ATGGGATGGTCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCC
 CTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGGGCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCT
 GGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGGCCTCCAGA
 TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTCACCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTG
 CCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGT
 TCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCG

GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAA
 GGACAGCACCTACTCCCTGTCTTACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAG
 TGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCTGA
 GCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGCCCCCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAATAAGGC
 CGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGT
 5 CTCTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAG
 TTCTCTTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGG
 TGCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGAT
 AGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCCATTTGTA
 TGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
 CACGGGGACGTGGTTTTCCTTTGAAAAACACGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCTGCATCATCTGTTC
 10 TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCC
 CTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTCACCTTCTCCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGG
 GCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCT
 CTCGGGACAACCTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCAGCGGCGGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC
 TACCGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTC
 CACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTCG
 15 TCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGATACCTTCCCTGCC
 GTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCTGACCGTGCCCTCCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACAT
 CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTGAACCCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTC
 CCCCTTGCCCTGCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCGTATGATC
 TCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGA
 CGGCGTGGAAGTGATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGA
 20 CCGTGTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAA
 AAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTAGCCGGAAGAGATGACCAA
 GAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGC
 CCGAGAACAACATAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGAC
 AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
 CCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCGTGACAC

CTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACTGGTAT
 CTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGGCGTGCCCGACAGATTTCAG
 CGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGC
 AGGCCCTGCAGACCCGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACAGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGAGGT
 GGAAGCGGAGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCCTGG
 5 CGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGGCTACATCATGGCCTGGGTCCGACAGGCCCTTG
 GCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTTACATCTACCCAGCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTTC
 ACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTA
 TTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACACCGTGACCGTGT
 CCAGCTGAATCTAGA

X0121-E01 (SEQ ID NO:30)

10 ATGGGATGGTCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCC
 CTCCACCCTGTCCGCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGCGGCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCT
 GGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGA
 TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTACCCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTG
 CCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGCGCGCTCCCTCCGTGT
 TCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCGC
 15 GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAA
 GGACAGCACCTACTCCCTGTCTTACCCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAG
 TGACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCTTCAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCTGA
 GCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGCCCCCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGGAAATAAGGC
 CGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGT
 CTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAG
 20 TTCCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCCTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGG
 TGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGAT
 AGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTA
 TGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
 CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACAGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCCTGCATCATCCTGTTTC
 TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCC

CTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTCACCTTCTCCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGG
 GCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCT
 CTCGGGACAACCTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC
 TACCGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCCTC
 CACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTCG
 5 TCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCCCTGCC
 GTGCTCCAGTCTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGACCGTGCCCTCCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACAT
 CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTGGAAACCAAGTCTGCGACACCCACACCTGTC
 CCCCTTGCCCTGCCCCCTGAACTGTCTGGGCGGACCCAGCGTGTCTCTGTCTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATC
 TCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGA
 CGGCGTGGAAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGA
 10 CCGTGTCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAA
 AAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAA
 GAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGC
 CCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGAC
 AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGTCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
 CCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTG
 15 GAGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGGTACATCATGGCCTGGGTCCGACAGGCTCCA
 GGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCTACATCTACCCAGCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTT
 CACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACT
 ACTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCACCGTGACCGTG
 TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGCGGAGGCAGCGACATCCAGATGAC
 CCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCCTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACA
 20 GCAACGGCTACAACCTGGAAGTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGATCATGATCTACCTGGGCAGCAAC
 AGAGCCAGCGCGTGTCCCGACAGATTCAGCGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGC
 CGAGGACGTGGGCGTGTACTATTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCCCAGAACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCA
 AGAGATGAATCTAGA

X0121-G01 (SEQ ID NO:31)

ATGGGATGGTCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCC

CTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTCTGGGCCTCCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCT
 GGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGA
 TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTACCCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTG
 CCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGT
 TCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACTTCTACCCCCGC
 5 GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAA
 GGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCTACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAG
 TGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCTGA
 GCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGCCCCCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGC
 CGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGT
 CTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAG
 10 TTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGG
 TGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCACGTGCCACGTTGTGAGTTGGAT
 AGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTA
 TGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
 CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACAGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCCTGCATCATCCTGTTTC
 TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCC
 15 CTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTACCTTCTCCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGG
 GCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTCACCATCT
 CTCGGGACAACCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCAGCGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC
 TACCGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGACGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCCTC
 CACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTCG
 TCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCCCTGCC
 20 GTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTGCTGACCGTGCCCTCCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACAT
 CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGTGGAACCCAAGTCCTGCGACACCCACACCTGTC
 CCCCTTGCCCTGCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCCTGATGATC
 TCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTAATTGGTACGTGGA
 CGGCGTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGA
 CCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAA

AAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAA
 GAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGC
 CCGAGAACAACACTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCTTCCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGAC
 AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
 CCTGTCCCTGTCTCCCGGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCCGTGACAC
 5 CTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACTGGTAT
 CTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGATCATGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGCGGTGCCCCGACAGATTGAG
 CGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGC
 AGGCCCTGCAGACCCCCAGAACCCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACAGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGA
 GGTGGAAGCGGAGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCC
 TGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGGCTACATCATGGCCTGGGTCCGACAGGCC
 10 CTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCCTACATCTACCCAGCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGG
 TTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTA
 CTATTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACACCGTGACCG
 TGTCCAGCTGAATCTAGA

X0122-A01 (SEQ ID NO:32)

ATGGGATGGTCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCACTCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCC
 15 CTCCACCCTGTCCGCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTGGGCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCT
 GGTATCAGCAGAAGCCCGGCAAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGA
 TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCGAGTTACCCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCCGACGACTTCGCCACCTACTACTG
 CCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAATCAAGCGGACCGTGCGCGCTCCCTCCGTGT
 TCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCTCCGTGGTCTGCCTGCTGAACAACCTTCTACCCCCGC
 GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAA
 20 GGACAGCACCTACTCCCTGTCCTCTACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCCTGCGAAG
 TGACCCACCAGGGCCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCGA
 GCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGCCCCCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGC
 CGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGGAAACCTGGCCCTGT
 CTCTTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAG
 TTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGG

TGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGAT
 AGTTGTGGAAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCCAGAAGGTACCCCATTTGTA
 TGGGATCTGATCTGGGGCCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
 CACGGGGACGTGGTTTTCTTTGAAAAACAGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCCTGCATCATCTGTTC
 TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCC
 5 CTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTCACCTTCTCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGG
 GCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCT
 CTCGGGACAACCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC
 TACCGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTCGACATCTGGGGGACAGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCTC
 CACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTCG
 TCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCCCTGCC
 10 GTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCTGACCGTGCCCTCCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACAT
 CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTGAACCCAAGTCTTGCGACACCCACACCTGTC
 CCCCTTGCCCTGCCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTCTCTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATC
 TCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGA
 CGGCGTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGA
 CCGTGTGTCACCAAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCCATCGAA
 15 AAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAA
 GAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGC
 CCGAGAACAACCTACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTTCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGAC
 AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
 CCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGAAGTGCAGCTGCTGGAAAGCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTG
 GAGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGGCTACATCATGGCCTGGGTCCGACAGGCTCCA
 20 GGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTTACATCTACCCAGCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGGTT
 CACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACT
 ACTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCACCGTGACCGTG
 TCTAGCGGAGGCGGAGGATCTGGCGGAGGTGGAAGTGGTGGTGGCGGAAGTGGCGGCGGAGGCAGCGACATCCAGATGAC
 CCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCCGTGACACCTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACA
 GCAACGGCTACAACCTACCTGGACTGGTATCTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAAC

AGAGCCAGCGCGTGCCCGACAGATTGACGGCAGCGGCTCCGGCACCAGCTTACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGC
 CGAGGACGTGGGCGTGACTATTGCATGCAGGCCCTGCAGACCCCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCA
 AGAGATGAATCTAGA

X0122-C01 (SEQ ID NO:33)

5 ATGGGATGGTCTGCATCATCCTGTTTCTGGTGGCTACAGCCACAGGCGTGCCTCCGACATCCAGATGACCCAGTCCCC
 CTCCACCCTGTCCGCCTCTGTGGGCGACAGAGTGACCATCACCTGTTCGGGCTCCAGTCCATCTCCAGCTGGCTGGCCT
 GGTATCAGCAGAAGCCCGCAAGGCCCCAAGCTGCTGATCTACAAGGCCAGCACCTGGAATCCGGCGTGCCCTCCAGA
 TTCTCCGGCTCTGGCTCCGGCACCAGTTTACCCTGACCATCAGCTCCCTGCAGCCGACGACTTCGCCACCTACTACTG
 CCAGCAGTACAACACCTACTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACCGTGGCCGCTCCCTCCGTGT
 TCATCTTCCCACCCTCCGACGAGCAGCTGAAGTCCGGCACCGCCTCCGTGGTCTGCCGTGCTGAACAACCTTACCCCCGC
 GAGGCCAAGGTGCAGTGGAAGGTGGACAACGCCCTGCAGTCCGGCAACTCCCAGGAATCCGTGACCGAGCAGGACTCCAA
 10 GGACAGCACCTACTCCCTGTCCTTACCCTGACCCTGTCCAAGGCCGACTACGAGAAGCACAAGGTGTACGCTGCGAAG
 TGACCCACCAGGGCTGTCCAGCCCCGTGACCAAGTCCTTCAACCGGGGCGAGTGCTGATGAGGCGCGCCTTCGCGTCGA
 GCATGCATCTAGGGCGGCCAATTCGCCCCCTCTCCCCCCCCCCCCCTAACGTTACTGGCCGAAGCCGCTTGAATAAGGC
 CGGTGTGCGTTTGTCTATATGTTATTTCCACCATATTGCCGTCTTTTGGCAATGTGAGGGCCCGAAACCTGGCCCTGT
 CTTCTTGACGAGCATTCCTAGGGGTCTTTCCCCTCTCGCCAAAGGAATGCAAGGTCTGTTGAATGTCGTGAAGGAAGCAG
 15 TTCTCTGGAAGCTTCTTGAAGACAAACAACGTCTGTAGCGACCTTTGCAGGCAGCGGAACCCCCACCTGGCGACAGG
 TGCCTCTGCGGCCAAAAGCCACGTGTATAAGATACACCTGCAAAGGCGGCACAACCCCAGTGCCACGTTGTGAGTTGGAT
 AGTTGTGGAAGAGTCAAATGGCTCTCTTCAAGCGTATTCAACAAGGGGCTGAAGGATGCCAGAAGGTACCCCATTTGTA
 TGGGATCTGATCTGGGGCTCGGTGCAGATGCTTTACATGTGTTTAGTCGAGGTTAAAAAACGTCTAGGCCCCCGAAC
 CACGGGGACGTGGTTCCTTTGAAAAACAGATGATAATATGGCCACAACCATGGGATGGTCCTGCATCATCTGTTTC
 TGGTGGCCACAGCCACAGGCGCTCACTCCGAGGTGCAATTGCTGGAATCCGGCGGAGGACTGGTGCAGCCTGGCGGCTCC
 CTGAGACTGTCTTGCGCCGCTCCGGCTTACCTTCTCCCACTACATCATGATGTGGGTGCGACAGGCTCCTGGCAAGGG
 20 GCTGGAATGGGTGTCCGGCATCTACTCCTCCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACTCCGTGAAGGGCCGGTTACCATCT
 CTCGGGACAACCTCCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACTCCCTGCGGGCCGAGGACACCGCCGTGTACTACTGCGCC
 TACCGGCGGATCGGCGTGCCAGACGGGACGAGTTGACATCTGGGGGCAGGGCACCATGGTGACAGTGTCTCCGCCTC
 CACCAAGGGCCCCCTCTGTGTTCCCGCTAGCACCTCCAGCAAGTCCACCTCCGGCGGCACCGCTGCTCTGGGCTGCCTCG
 TCAAGGACTACTTCCCCGAGCCCGTGACCGTGTCTGGAACCTCTGGCGCCCTGACCAGCGGAGTGCATACCTTCCCTGCC
 GTGCTCCAGTCTCCGGCCTGTACAGCCTGTCTCTGTCGTGACCGTGCCCTCCAGCTCCCTGGGCACCCAGACCTACAT

CTGCAACGTGAACCACAAGCCCTCCAACACCAAAGTGGACAAGCGGGTGAACCCAAGTCCTGCGACACCCACACCTGTC
 CCCCTTGCCCTGCCCCTGAACTGCTGGGCGGACCCAGCGTGTTCCGTGTTCCCCCAAAGCCCAAGGACACCCTGATGATC
 TCCCGGACCCCCGAAGTGACCTGCGTGGTGGTGGACGTGTCCACGAGGACCCTGAAGTGAAGTTTAATTGGTACGTGGA
 CGGCGTGGAAGTGCATAACGCCAAGACCAAGCCCAGAGAGGAACAGTACAACCTCCACCTACCGGGTGGTGTCCGTGCTGA
 CCGTGCTGCACCAGGACTGGCTGAACGGCAAAGAGTACAAGTGCAAGGTGTCCAACAAGGCCCTGCCTGCCCCATCGAA
 5 AAGACCATCAGCAAGGCCAAGGGCCAGCCTCGCGAGCCCCAGGTGTACACCCTGCCCCCTAGCCGGGAAGAGATGACCAA
 GAACCAGGTGTCCCTGACCTGTCTGGTCAAGGGCTTCTACCCCTCCGATATCGCCGTGGAATGGGAGTCCAACGGCCAGC
 CCGAGAACAATAACAAGACCACCCCCCTGTGCTGGACAGCGACGGCTCATTCCTTCTGTACTCCAAGCTGACCGTGGAC
 AAGTCCCGGTGGCAGCAGGGCAACGTGTTCTCCTGTCTCCGTGATGCACGAGGCCCTGCACAACCACTACACCCAGAAGTC
 CCTGTCCCTGTCTCCCGCAAGTCTGGCGGAGGATCCGACATCCAGATGACCCAGAGCCCCCTGAGCCTGCCCGTGACAC
 CTGGCGAGCCTGCCAGCATCAGCTGCAGAAGCAGCCAGAGCCTGCTGCACAGCAACGGCTACAACCTACCTGGACTGGTAT
 10 CTGCAGAAGCCCGGCCAGTCCCCCAGCTGCTGATCTACCTGGGCAGCAACAGAGCCAGCGCGTGCCCGACAGATTGAG
 CGGCAGCGGCTCCGGCACCGACTTCACCCTGAAGATCAGCCGGGTGGAAGCCGAGGACGTGGGCGTGTACTACTGCATGC
 AGGCCCTGCAGACCCCTGGACCTTCGGCCAGGGCACCAAGGTGGAAATCAAGCGGACAGGCGGCGGAGGCTCTGGCGGA
 GGTGGAAGCGGAGGCGGAGGAAGTGGCGGAGGCGGCTCTGAGGTGCAGCTGCTGGAATCTGGCGGCGGACTGGTGCAGCC
 TGGCGGCAGCCTGAGACTGTCTTGCGCCGCCAGCGGCTTCACCTTCAGCGGCTACATCATGGCCTGGGTCCGACAGGCCC
 CTGGCAAGGGCCTGGAATGGGTGTCTACATCTACCCCAGCGGCGGCATCACCGTGTACGCCGACAGCGTGAAGGGCCGG
 15 TTCACCATCAGCCGGGACAACAGCAAGAACACCCTGTACCTGCAGATGAACAGCCTGCGGGCCGAGGACACCGCGGTGTA
 CTATTGCACCCGGCAGCGGTACAGAGGCCCCAAGTACTACTACTACATGGACGTGTGGGGCAAGGGCACCACCGTGACCG
 TGTCCAGCTGAATCTAGA

Se generaron los plásmidos de expresión que codifican
 los anticuerpos biespecíficos antes mencionados. Después de
 20 filtración estéril de 0.2um, los plásmidos se transfectaron
 en cultivos de 60mL de células Expi293F™, cultivados en
 medio de expresión Expi293™, usando ExpiFectamine™ como un
 reactivo de transfección, como se describe por el protocolo
 LifeTech (Life Technologies™, Carlsbad, CA). Se agregaron

potenciadores de transfección Expifectamine™ 1 y 2 en el día 2 del cultivo como se describe por el protocolo LifeTech. Los cultivos se incubaron a 37C, 8% CO₂, 140rpm a lo largo del día 7. Los cultivos se cosecharon por centrifugación después de filtración estéril de 0.2um y se almacenaron a 4 °C. Los clones se purificaron por lotes usando una columna de proteína A.

Se incubaron concentraciones variables de los anticuerpos biespecíficos con muestras de FXIIa y pKal individuales, y la habilidad de estas proteasas para escindir un sustrato de péptido se monitoreó con el tiempo al medir los cambios en la fluorescencia de una porción química unida covalentemente al sustrato de péptido. Los bucles de estos datos cinéticos son equivalentes para tasas proteolíticas enzimáticas, que después se grafican contra la concentración del inhibidor. Después, las gráficas se ajustan a una ecuación de inhibidor de unión estrecha (Ecuación 1) mediante regresión no lineal para obtener constantes de inhibición aparentes (K_i^{app}).

$$v = V_0 \cdot \frac{([E] - [I] - K_i^{app}) + \sqrt{([E] - [I] - K_i^{app})^2 - 4[E] \cdot K_i^{app}}}{2} \quad [\text{Ecuación 1}]$$

Las FIGURAS 1 y 2A-2F muestran las gráficas de las actividades de inhibición de pKal y FXIIa de cada anticuerpo biespecífico probado. Todos los clones probados fueron

capaces de inhibir tanto pKal como FXIIa. La K_i^{app} pKal y FXIIa para cada anticuerpo biespecífico se enlista a continuación en la Tabla 3.

Tabla 3. Constantes de inhibición aparente para anticuerpos biespecíficos

Anticuerpo Biespecífico	K_i^{app} pKal (nM)	K_i^{app} FXIIa (nM)
X120-A01	0.1376 +/- 0.0206	0.0515 +/- 0.0186
X121-E01	0.1593 +/- 0.0245	0.6114 +/- 0.0714
X122-A01	0.1693 +/- 0.0242	6.0467 +/- 0.6497
X122-C01	0.1610 +/- 0.0221	5.6900 +/- 0.6512
Control M71-F06 IgG	N/A	0.8758 +/- 0.0579

Ejemplo 2: Construcción y Caracterización de Anticuerpos Biespecíficos Ejemplares que unen pKal y Factor XIIa

Otro conjunto ejemplar de anticuerpos biespecíficos anti-pKal/anti-FXIIa se construyó como sigue. La porción IgG de las moléculas fue la misma usada en el Ejemplo 1, *es decir*, DX-2930. Para el componente anti-FXIIa, se eligieron 36 aislados y se convirtieron a scFvs en orientaciones tanto Ligera/Pesada como Pesada/Ligera. Los scFvs se fusionaron al DX-2930 IgG usando un ligador SGGGS (SEQ ID NO: 22). Cuando se construyen los scFvs, un ligador $(G_4S)_4$ se usó para fusionar los dominios ligeros variables y variables pesados anti-FXIIa entre sí. Las secuencias de los anticuerpos biespecíficos se proporcionan más adelante.

Las moléculas biespecíficas construidas mostraron actividad anti-pKal generalmente consistente con valores previamente determinados para DX-2930 (Tabla 4). Algunos valores mostraron menos potencia contra pKal, posiblemente debido a errores en la calculación de la concentración o posiblemente debido a la agregación. La actividad anti-FXIIa del componente scFv era típicamente inferior que los valores previamente determinados, posiblemente debido a la inestabilidad inherente asociada con scFvs (Tabla 4). La actividad de las moléculas biespecíficas en el ensayo plástico mostró una marcada mejoría sobre DX-2930 y los anti-FXIIa IgGs. DX-2930 mostró un intervalo entre 70-100nM en este ensayo, mientras que el anticuerpo principal anti-FXIIa mostró inhibición en el intervalo ~100nM. Un panel de las moléculas biespecíficas probadas mostró inhibición en el intervalo 1-10 nM (Tabla 5).

Tabla 4: Ki, aparente de 72 anticuerpos anti-pKal + anti-FXIIa biespecíficos contra los respectivos objetivos. DX-2930 y un candidato principal de FXIIa (559C-M0292-D07) se usaron como controles.

	Orientación ScFv	Aislamiento biespecífico	Nombre FXII	Anti-pKal Corregido Ki, app (pM)	Anti-FXIIa Corregido Ki, app (pM)
1	H→L	620I-X136-C07	559C-M0177-B11	182	699
	L→H	620I-X138-A08	559C-M0177-	920	357

			B11		
	2	H→L	620I-X136-B02	559C-M0177-C12	210 2857
		L→H	620I-X139-A12	559C-M0177-C12	2053 4084
5	3	H→L	620I-X137-B08	559C-M0178-A08	312 409
		L→H	620I-X142-A04	559C-M0178-A08	162 1233
	4	H→L	620I-X142-B11	559C-M0179-A03	622 7719
		L→H	620I-X138-B01	559C-M0179-A03	169 6628
10	5	H→L	620I-X136-C01	559C-M0182-B04	173 957
		L→H	620I-X138-A12	559C-M0182-B04	405 1925
	6	H→L	620I-X136-A12	559C-M0182-D04	234 304
		L→H	620I-X138-A02	559C-M0182-D04	206 288
15	7	H→L	620I-X136-A05	559C-M0182-H01	179 111
		L→H	620I-X138-C07	559C-M0182-H01	196 314
	8	H→L	620I-X136-E07	559C-M0182-H04	190 312
		L→H	620I-X142-B02	559C-M0182-H04	156 955
20	9	H→L	620I-X136-F11	559C-M0183-B12	201 235
		L→H	620I-X142-A05	559C-M0183-B12	160 2140
	10	H→L	620I-X136-C09	559C-M0183-C03	173 90
		L→H	620I-X138-B10	559C-M0183-C03	75 58

5	11	H→L	620I-X136-C08	559C-M0183-D08	216	1231
		L→H	620I-X139-A11	559C-M0183-D08	235	3835
	12	H→L	620I-X136-D05	559C-M0183-H08	55	13
		L→H	620I-X138-D04	559C-M0183-H08	215	79
	13	H→L	620I-X136-G08	559C-M0184-B04	176	28
10		L→H	620I-X142-B07	559C-M0184-B04	224	775
	14	H→L	620I-X142-A11	559C-M0184-D01	158	195
		L→H	620I-X138-G12	559C-M0184-D01	186	766
	15	H→L	620I-X142-A10	559C-M0184-E06	175	389
		L→H	620I-X138-D03	559C-M0184-E06	79	344
15	16	H→L	620I-X137-C08	559C-M0184-F12	153	34
		L→H	620I-X142-E02	559C-M0184-F12	162	186
	17	H→L	620I-X136-E05	559C-M0191-A03	158	172
		L→H	620I-X138-B06	559C-M0191-A03	330	405
	18	H→L	620I-X136-A09	559C-M0191-B11	190	X
20		L→H	620I-X138-A06	559C-M0191-B11	145	X
	19	H→L	620I-X137-A10	559C-M0191-C09	195	205
		L→H	620I-X139-B10	559C-M0191-C09	247	189
	20	H→L	620I-X136-A04	559C-M0191-	171	230

			E04		
	L→H	620I-X138-D06	559C-M0191-E04	199	132
21	H→L	620I-X136-C11	559C-M0191-E09	154	38
	L→H	620I-X138-B07	559C-M0191-E09	246	135
22	H→L	620I-X136-A02	559C-M0191-H09	176	136
	L→H	620I-X139-G02	559C-M0191-H09	171	161
23	H→L	620I-X136-B07	559C-M0191-H10	168	99
	L→H	620I-X138-E03	559C-M0191-H10	178	122
24	H→L	620I-X136-G05	559C-M0192-A01	179	100
	L→H	620I-X139-D12	559C-M0192-A01	428	383
25	H→L	620I-X136-A01	559C-M0192-A03	135	224
	L→H	620I-X138-C12	559C-M0192-A03	267	697
26	H→L	620I-X136-G10	559C-M0192-D02	171	28
	L→H	620I-X138-D05	559C-M0192-D02	519	139
27	H→L	620I-X136-F07	559C-M0192-D12	183	167
	L→H	620I-X138-A01	559C-M0192-D12	154	465
28	H→L	620I-X142-E09	559C-M0192-F01	174	163
	L→H	620I-X138-D11	559C-M0192-F01	178	443
29	H→L	620I-X136-C05	559C-M0192-F06	150	58

5		L→H	620I-X142-A02	559C-M0192-F06	152	63
	30	H→L	620I-X136-C04	559C-M0192-F07	205	189
		L→H	620I-X138-F02	559C-M0192-F07	464	794
	31	H→L	620I-X136-G04	559C-M0192-G03	179	107
		L→H	620I-X139-G12	559C-M0192-G03	276	252
10	32	H→L	620I-X136-B11	559C-M0192-G05	172	184
		L→H	620I-X142-D04	559C-M0192-G05	170	414
	33	H→L	620I-X136-D06	559C-M0192-H04	176	84
		L→H	620I-X139-A01	559C-M0192-H04	146	53
	34	H→L	620I-X136-D12	559C-M0192-H11	179	63
15		L→H	620I-X138-F05	559C-M0192-H11	214	147
	35	H→L	620I-X136-A11	559C-M0292-D07	199	193
		L→H	620I-X139-E05	559C-M0292-D07	196	172
	36	H→L	620I-X136-C12	559C-M0177-A06	217	1567
		L→H	620I-X138-E05	559C-M0177-A06	186	245
20	37	Placa 1		DX-2930	160	X
		Placa 2		DX-2930	138	X
	38	Placa 1		559C-M292-D07	X	36
		Placa 2		559C-M292-D07	X	38

Tabla 5: Comparación de aislamientos anti-FXIIa parenteral y moléculas biespecíficas anti-pKal/anti-FXIIa en ensayo de activación por plasma. El plasma se diluyó 1:40. Inhibidores añadidos al plasma diluido. 2.5% de ácido elágico añadido al plasma. Después de 2 minutos, la activación se inactivó mediante la adición de inhibidor de tripsina de maíz. La actividad pKal se midió mediante la adición de un sustrato profluorescente.

	Nombre del aislamiento FXII IgG	Nombre Iso biespecífico	Inhibición del plasma	
			IgG IC50 (nM)	Biespecífico IC50/Ki (nM)
	559C-M0192-A03	620I-X0136-A01	514	52
	559C-M0192-F06	620I-X0136-C05	304	2.6
	559C-M0191-E09	620I-X0136-C11	31	1.8
	559C-M0192-H11	620I-X0136-D12	101	3
	559C-M0192-A01	620I-X0136-G05	198	8

Cinco candidatos ejemplares (620I-X0136-D12, 620I-X0136-C05, 620I-X0136-C11, 620I-X0136-G05, y 620I-X0136-A01) se seleccionaron para análisis adicional. De estos 5 candidatos principales, se eliminó 620I-X0136-A01 debido a los bajos valores de expresión y múltiples especies en los trazados de cromatografía de exclusión de tamaño (SEC). De los 4 candidatos principales restantes, cada aislado contuvo un grado variante de agregado de Alto Peso Molecular (16-35%) (FIGURA 3). Este agregado se determinó ser dependiente de

concentración y se planteó hipótesis de ser estructuras diméricas que interactúan a través de los dominios scFv.

Un anticuerpo biespecífico ejemplar, 620I-X0136-D12 (D12) se evaluó por su habilidad de inhibir actividad pKal plasma mediante el ensayo de inhibición del plasma. Brevemente, el plasma reconstituido que contiene cantidades pre-pKal y FXII en la presencia o ausencia de HMWK se diluyó 1:40 en una solución amortiguadora de ensayo (20 mM Tris-HCl pH 7.5, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, 0.1% PEG-8000 y 0.1% de Triton X-100). La concentración de pre-pKal, FXII, y HMWK es equivalente a sus concentraciones normales en el plasma. Los inhibidores se agregaron al plasma reconstituido a concentraciones variantes en una microplaca de 96 pocillos a temperatura ambiente. Después, se inició la activación de contacto mediante la adición de 25% (2.5% final) de una solución de ácido elágico diluida, la microplaca se mezcló mediante agitación suave, y se le permitió proceder durante 2 minutos a temperatura ambiente, mientras que se agregó 100 nM de CTI. Después, se eliminó 10 μ l de esta mezcla a una microplaca replica que contiene 80 μ l de la solución amortiguadora de ensayo en pre-equilibrado a 30C. Después, esta placa de dilución se incubó 5 minutos adicionales a 30C, y proteólisis de PFR-AMC evaluado como anteriormente, pero con concentraciones calculadas de nuevo del inhibidor usadas

en el eje X para ajustar la curva a una ecuación de Morrison modificada para inhibidores de unión estrecha (el plasma se diluyó 1:400 en el ensayo final leído). Los resultados de este estudio se muestran en las FIGURAS 5A-5D (en la presencia de HMWK de una sola cadena) y FIGURAS 6A-6D (en la ausencia de HMWK). El anticuerpo biespecífico rindió mejor que la suma de las IgGs principales, particularmente en la presencia de HMWK. Usando la ecuación del inhibidor de unión estrecha, los valores K_i aparentes de D12 se determinaron ser 8.8 nM en la presencia de HMWK y 2.6 nM en la ausencia de HMWK.

El candidato anticuerpo biespecífico 620I-X0136-D12 (D12) también se evaluó por su habilidad para retrasar el tiempo de tromboplastina parcial activado (APTT) en un ensayo APTT en comparación a un anticuerpo anti-FXIIa (D06) y un anticuerpo anti-pKal (H03) (FIGURA 7). Brevemente, las moléculas inhibidoras (o solución amortiguadora de control de dilución = 25 mM HEPES, pH 7.5, 125 mM NaCl) se agregaron a tres concentraciones (25, 50, 100) a plasma puro en una mezcla 1: 1, y pre-equilibrada a 37°C durante 5 minutos. 2 x 50 µl de esta mezcla se dispensó a 2 tinas de ensayo KC4 Delta separadas (con bola de metal). Después de 60 segundos, 50 µl de un reactivo aPTT (activador, Pacific Hemostasis APTT-XL) se agregó a las tinas giratorias, y 180 segundos

después de adición de aPTT (a t = 0 seg), se agregó 50 µl de CaCl₂. El instrumento KC4 Delta registró el tiempo de coagulación en segundos.

El candidato anticuerpo biespecífico 620I-X0136-D12 (D12) también se evaluó por su habilidad para inhibir formación de fibrina (FIGURA 8).

Secuencias de Anticuerpo: todas las moléculas biespecíficas descritas en este Ejemplo contienen un primer polipéptido que comprenden la Cadena Pesada DX-2930, un ligador SGGGS, y un scFv anti-FXIIa en ya sea las orientaciones Pesada/Ligera o Ligera/Pesada. La Cadena Ligera DX-2930 también se expresó usando el mismo vector. Solo se enlistan Cadena Pesada + secuencia de scFv para cada aislado.

Cadena ligera >DX-2930 (sin secuencia de señal)

DIQMTQSPSTLSASVGDRTITCRASQSISSWLAWYQQKPGKAPKLLIYKASTLESGVPSRFSGSGSGTEFTLTITSSLPQ
DDFATYYCQYNTYWTFGQGTKVEIKRTVAAPSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCLLNNFYPREAKVQWKVDNALQSGNSQE
SVTEQDSKSTYSLSSLTLSKADYEKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC (SEQ ID NO: 46)

Biespecíficos derivados de 36 IgGs anti-FXIIa ejemplares:

>620I-X0136-C07=Cadena Pesada DX2930 + 559C-M0177-B11 L4H

scFv

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDNLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP

PVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCA
 ASGFTFSRYIMVWVRQAPGKGLEWVSR IYPSGGYTRYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRG
 PKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVT PGEPA SISC RSSQSLLHSNGYNYLDW
 YLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVG VYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ
 ID NO: 51)

5 **>620I-X0138-A08=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0177-B11**

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR DNSKNTLY
 LQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
 VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
 10 GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT
 PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVT PGEPA SISC
 RSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTL KISRVEAEDVG VYYCMQALQTPWTF
 GQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYIMVWVRQAPGKGLEWVS
 RIYPSGGYTRYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ
 ID NO: 52)

15 **>620I-X0136-B02=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0177-C12**

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR D
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTV PSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 20 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTT PPVLDS DGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSV MHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYHMHWRQAPGKGLEWVSRIVPS
 GGMTRYADSVKGRFTISR DNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVT PGEPA SISC RSSQSLLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG S

NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 53)

>620I-X0139-A12=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0177-C12

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 5 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 10 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYHMHVVRQAPGKGLEWVSRIVPSGGMTRYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO: 54)

>620I-X0137-B08=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0178-A08

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 15 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYIMGWVRQAPGKGLEWVSRIYPS
 20 GGATQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 55)

>620I-X0142-A04=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0178-A08

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN

NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 5 NHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSFYIMGWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGATQYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO: 56)

>620I-X0142-B11=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0179-A03

L4H

10 EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 15 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVSYIYPS
 GGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDIGVYYCMQGRHRPYTFGQGRLEIKR (SEQ ID NO: 57)

>620I-X0138-B01=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0179-A03

H4L

20 EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK

NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIY
 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDIGVYYCMQGRHRPYTFGQGTREIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSGYIMAWVRQAPGKGLEWVS YIYPSGGITVYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO: 58)

5 **>620I-X0136-C01=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0182-B04**

L4H

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 10 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVS YIYPS
 GGHTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLG
 15 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 59)

15 **>620I-X0138-A12=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0182-B04**

H4L

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 20 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIY
 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVS YIYPSGGHTKYADSVKG

RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 60)

>620I-X0136-A12=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0182-D04

L4H

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 5 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYTMNWVRQAPGKGLEWVSRIYPS
 10 GGKTLYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 61)

>620I-X0138-A02=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0182-D04

H4L

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 15 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 20 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYTMNWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGKTLYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 62)

>620I-X0136-A05=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0182-H01

L4H

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN

NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 5 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIWPS
 GGMTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLS
 NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 63)

>620I-X0138-C07=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0182-H01

H4L

10 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 15 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 LGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSRYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIWPSGGMTKYADSVKG
 RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 64)

>620I-X0136-E07=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0182-H04

L4H

20 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK

NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYIMGWVRQAPGKGLEWVSRIYPS
 GGTTFYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 65)

5 **>620I-X0142-B02=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0182-H04**

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 10 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSDI QMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 LGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGSGGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYIMGWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGTTFYADSVK
 15 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 66)

>620I-X0136-F11=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0183-B12

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 20 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMYVVRQAPGKGLEWVSRIYPS
 GGITHYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG

NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 67)

>620I-X0142-A05=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0183-B12

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 5 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 10 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMYWRQAPGKGLEWVSRIYPSGGITHYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO: 68)

>620I-X0136-C09=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0183-C03

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 15 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYNMHWVRQAPGKGLEWVSYSISPS
 20 GGKTKYTDSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 69)

>620I-X0138-B10=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0183-C03

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN

NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 5 NHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIY
 LGSNRASGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYNMHWVRQAPGKGLEWVS YISPSGGKTKYTDSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 70)

>620I-X0136-C08=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0183-D08

L4H

10 EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 15 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSRYIMGWVRQAPGKGLEWVSSIYPS
 GGVTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTTVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLG
 NRASGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 71)

>620I-X0139-A11=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0183-D08

H4L

20 EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK

NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSRYIMGWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGVTRYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO: 72)

5 **>620I-X0136-D05=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0183-H08**

L4H

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 10 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSRYIMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPS
 GGVTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 15 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 73)

>620I-X0138-D04=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0183-H08

H4L

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 20 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSRYIMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGVTKYADSVKG

RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 74)

>620I-X0136-G08=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0184-B04

L4H

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 5 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPS
 10 GGVTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 75)

>620I-X0142-B07=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0184-B04

H4L

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 15 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 20 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGVTKYADSVKGR
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 76)

>620I-X0142-A11=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0184-D01

L4H

EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN

NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDRK
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 5 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYVMGWVRQAPGKGLEWVSRIYPS
 GGLTQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPRDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 77)

>620I-X0138-G12=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0184-D01

H4L

10 EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDRK
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 15 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 LGSNRASGVPRDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYVMGWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGLTQYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 78)

>620I-X0142-A10=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0184-E06

L4H

20 EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDRK
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK

NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVSSIWPS
 GGKTVYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 79)

5 **>620I-X0138-D03=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0184-E06**

H4L

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 10 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSDI QMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 LGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGSGGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVSSIWPSGGKTVYADSVK
 15 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 80)

>620I-X0137-C08=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0184-F12

L4H

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 20 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKGLEWVSGIWP
 GGRTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG

NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 81)

>620I-X0142-E02=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0184-F12

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 5 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 10 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKGLEWVSGIWPSSGGRTKYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO: 82)

>620I-X0136-E05=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-A03

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 15 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYIMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPS
 20 GGNTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 83)

>620I-X0138-B06=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-A03

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN

NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 5 NHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIY
 LGSNRASGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLESAGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYIMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGNTKYADSVKG
 RFTISRDNSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 84)

>620I-X0136-A09=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-B11

H4L

10

EVQLLESAGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 15 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESAGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO: 85)

>620I-X0138-A06=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-B11

H4L

20

EVQLLESAGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIY
 LGSNRASGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG

GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFS (SEQ ID NO: 86)

>620I-X0137-A10=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-C09

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 5 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSPIYIMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPS
 10 GGATVYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 87)

>620I-X0139-B10=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-C09

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 15 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 20 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSPIYIMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGATVYADSVKG
 RFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 88)

>620I-X0136-A04=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-E04

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN

NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 5 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYIMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPS
 GGMTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 89)

>620I-X0138-D06=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-E04

H4L

10 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 15 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYIMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGMTKYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 90)

>620I-X0136-C11=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-E09

L4H

20 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK

NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMHWRQAPGKGLEWVSVIYPS
 GGKTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 91)

5 **>620I-X0138-B07=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-E09**

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 10 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSDI QMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 LGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGSGGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMHWRQAPGKGLEWVSVIYPSGGKTRYADSVK
 15 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 92)

>620I-X0136-A02=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-H09

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 20 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPS
 GGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDI QMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG

NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 93)

>620I-X0139-G02=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-H09

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 5 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 10 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSMYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSSGGLTKYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO: 94)

>620I-X0136-B07=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-H10

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 15 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYTMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPS
 20 GGFTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHNSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 95)

>620I-X0138-E03=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0191-H10

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN

NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 5 NHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 LGSNRASGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYTMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGFTRYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 96)

>620I-X0136-G05=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-A01

L4H

10 EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 15 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPS
 GGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTTVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPRDFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 97)

>620I-X0139-D12=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-A01

H4L

20 EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK

NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGGLTKYADSVKG
 RFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO: 98)

5 **>620I-X0136-A01=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-A03**

L4H

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 10 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVSSIYPS
 GGMTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 15 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 99)

15 **>620I-X0138-C12=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-A03**

H4L

EVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 20 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIY
 LGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGG
 GSGGGGSEVQLLES GGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYVMQWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGMTKYADSVKG

RFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 100)

>620I-X0136-G10=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-D02

L4H

5 EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALH
10 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIWPS
GGFTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSSGGGG
SGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 101)

>620I-X0138-D05=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-D02

H4L

15 EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLY
LQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVPEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
PVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCR
20 RSSQSLLSHNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTF
GQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKGLEWVS
SIWPSGGFTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLY LQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTTVTVSS (SEQ
ID NO: 102)

>620I-X0136-F07=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-D12

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 5 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYIMQWVRQAPGKGLEWVSSIYPS
 GGRTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 103)

>620I-X0138-A01=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-D12

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLY
 LQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFPEPVT
 VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
 GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTP
 15 PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCR
 RSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTF
 GQGTKVEIKRTGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYIMQWVRQAPGKGLEWVS
 SIYPSGGRTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSS (SEQ
 ID NO: 104)

>620I-X0142-E09=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-F01

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYNMAWVRQAPGKGLEWVSRIYPS
 GGMTQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 5 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 105)

>620I-X0138-D11=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-F01

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNTLY
 LQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFPEPVT
 10 VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPCPAPELL
 GGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLN
 GKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTP
 PVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCR
 RSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTF
 GQGTKVEIKRTGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYNMAWVRQAPGKGLEWVS
 RIYPSGGMTQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSS (SEQ
 15 ID NO: 106)

>620I-X0136-C05=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-F06

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 20 LGCLVKDYFPEPVT VSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIYPS
 GGKTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGG

SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEFASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 107)

>620I-X0142-A02=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-F06

H4L

5 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSL
10 PVTGPGEFASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG
VYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYV
MHWVRQAPGKGLEWVSSIYPSGGKTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMD
VWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 108)

>620I-X0136-C04=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-F07

L4H

15 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVTPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
20 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMSWVRQAPGKGLEWVSRIYPS
GGVTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGG
SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEFASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 109)

>620I-X0138-F02=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-F07

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKN
 TLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDY
 FPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTC
 PPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVV
 SVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVE
 5 WESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMT
 QSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISR
 VEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAAS
 GFTFSQYVMSWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGVTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYR
 GPKYYYYMDVWGKTTTVTVSS (SEQ ID NO: 110)

>620I-X0136-G04=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-G03

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 15 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQSVSMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYNMVWVRQAPGKGLEWVSRIWPS
 GGKTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKTTTVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 111)

>620I-X0139-G12=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-G03

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
 EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC
 PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT

VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
 QPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSL
 PVTGPGEPAISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG
 VYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYN
 MVWVRQAPGKGLEWVSRIWPSGGKTTYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMD
 5 VWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO: 112)

>620I-X0136-B11=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-G05

L4H

EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 10 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYTMWVRQAPGKGLEWVSRIYPS
 GGVTQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGG
 15 SGGGSGGGGSGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 SNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 113)

>620I-X0142-D04=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-G05

H4L

EVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
 20 EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKRVEPKSCDKTHTCPPC
 PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
 QPENNYKTTTPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGSDIQMTQSPLSL
 PVTGPGEPAISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG
 VYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGLLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYT

MVWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGVTQYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMD
VWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO: 114)

>620I-X0136-D06=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-H04

L4H

5 EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALH
10 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPS
GGLTNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGT TVTVSSGGGG
SGGGSGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 115)

>620I-X0139-A01=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-H04

H4L

15 EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA LGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSL
20 PVTGPGEPAISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG
VYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGSGGGSGGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYV
MHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGLTNYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMD
VWGKGT TVTVSS (SEQ ID NO: 116)

>620I-X0136-D12=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-H11

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 5 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIWPS
 GGHTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKGTITVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 117)

>620I-X0138-F05=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0192-H11

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAAALGCLVKDYFP
 EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKRVEPKSCDKTHTCPPC
 PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
 15 QPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSL
 PVTGPGEPAISCRSSQSLHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG
 VYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYV
 MHWVRQAPGKGLEWVSSIWPSGGHTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMD
 VWGKGTITVTVSS (SEQ ID NO: 118)

>620I-X0136-A11=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0292-D07

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA

KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYVMHWVRQAPGKGLEWVSSIWPS
 GGKTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDAWGQGTTTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 5 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 119)

>620I-X0139-E05=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0292-D07

H4L

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN SKNT
 LYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
 10 EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC
 PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
 VLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
 QPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSL
 PVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG
 VYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSNYV
 15 MHWVRQAPGKGLEWVSSIWPSGGKTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMD
 AWGQGTTTVTVSS (SEQ ID NO: 120)

>620I-X0136-C12=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0177-A06

L4H

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 20 LGCLVKDYFPEPVTWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSGDSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSQVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYSMHWVRQAPGKGLEWVSRIYPS
 GGITSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYYMDVWGKTTTVTVSSGGGG

SGGGGSGGGGSGGGGSDIQMTQSPLSLPVTGPGEFASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKR (SEQ ID NO: 121)

>620I-X0138-E05=Cadena Pesada DX2930 + scFv 559C-M0177-A06

H4L

5 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDNKNT
LYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAALGCLVKDYFP
EPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKRVEPKSCDKTHTCPPC
PAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTKPREEQYNSTYRVVSVLT
VLHQDWLNGKEYCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTKNQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNG
QPENNYKTTTPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALHNHYTQKSLSLSPGKSGGGSDIQMTQSPLSL
10 PVTGPGEFASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSNRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVG
VYYCMQALQTPWTFGQGTKVEIKRTGGGGSGGGGSGGGGSGGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSFYS
MHWVRQAPGKGLEWVSRIYPSGGITSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCTRQRYRGPKYYYMD
VWGKGTTVTVSS (SEQ ID NO: 122)

Ejemplo 3: Construcción y Caracterización de Anticuerpos

Biespecíficos Ejemplares que contienen Unión de Disulfuro

15 Para combatir estos agregados, se diseñó la unión de
disulfuro entre 44 residuos de VH 44 (C₄₄) y 100 residuos de
VL 100 (C₁₀₀) en la región scFv para 4 clones, 620I-X0177-A01
(620I-X0173-A11), 620I-X0177-C01 (620I-X0173-C07), 620I-
X0177-E01 (620I-X0173-E07), y 620I-X0177-G01 (620I-X0173-
20 G11). El análisis SEC de los biespecíficos que contienen
scFvs con disulfuros mostró reducción dramática de los picos
de alto peso molecular, llevando los intervalos a 1-2%.
FIGURAS 4A-4D. Esta reducción de agregación aplica a lo largo
de todas las concentraciones probadas. Biacore de estos

clones biespecíficos mostraron una unión estrecha, específica de a pKal y FXIIa (FIGURAS 9A-9B). La inhibición del plasma de estos aislados varía de los intervalos de 0.5 a 8 nM (FIGURAS 10A-10F).

5 El ensayo de inhibición del plasma como se describe en la presente se llevó a cabo para determinar la actividad inhibitoria del anticuerpo biespecífico 620I-X0177-A01. El plasma se diluyó 1:40 y los inhibidores se agregaron al plasma diluido. Se agregó 2.5% (concentración final) de una
10 solución de ácido elágico diluida al plasma. Alrededor de 2 minutos después, la activación del plasma se inactivó mediante la adición de CTI. La actividad de pKal en el plasma se midió mediante la adición de un sustrato profluorecente como se describe en la presente. Los resultados así obtenidos
15 se muestran en la FIGURA 11.

La actividad inhibitoria del clon 620I-X0177-A01 se comparó con el de los anticuerpos principales, ya sea solo o en combinación. Se observaron disminuciones en la afinidad entre las IgG precursores y el anticuerpo biespecífico.
20 FIGURAS 12A-12B.

Además, las habilidades de varios anticuerpos biespecíficos en APTT se evaluaron después de los métodos descritos en la presente. Todos los anticuerpos probados mostraron retraso dependiente de dosis de APTT. FIGURA 13.

Las habilidades de los clones de anticuerpos 1A01 (anti-FXIIa) y 7A01 (biespecífico contra tanto pKal como FXII) para inhibir depósito de fibrina también se examinaron y los resultados se muestran en la FIGURA 14. Se observó una inhibición dependiente de la dosis de la deposición de fibrina.

En general, los ensayos de inhibición enzimática determinaron que los valores K_i aparentes de los componentes anti-pKal y anti-FXIIa individuales del anticuerpo biespecífico 620I-X0177-A01 ejemplar fueron similares a las moléculas precursoras, con valores K_i aparentes de 389 pM y 73 pM, respectivamente. De manera sorprendente, experimentos adicionales en plasma diluido activado por contacto revelaron que este anticuerpo biespecífico era > 5 veces más eficaz en la prevención de generación de pKal que una combinación 1:1 de los anticuerpos principales, y > 20 veces más eficaz que cualquiera de los anticuerpos principales. Estos datos sugieren que un anticuerpo biespecífico sería excepcionalmente potente en su capacidad para cerrar el bucle de retroalimentación positiva de la activación del sistema de contacto.

Las secuencias de los anticuerpos biespecíficos con disulfuro restringido scFvs se proporcionan a continuación:

> 620I-X0173-A11(620I-X0177-A01) = 620I-X0136-D12

*Germlined + Optimización del scFv + estabilización del
disulfuro*

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
5 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIWPS
GGHTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTTVTVSSGGGG
SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
10 NRASGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 47)

>620I-X0173-C07 (620I-X0177-C01) = 620I-X0136-C05

*Germlined + Optimización del scFv + estabilización del
disulfuro*

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
15 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPS
20 GGKTSYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTTVTVSSGGGG
SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
NRASGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 48)

>620I-X0173-E07 (620I-X0177-E01) = 620I-X0136-C11

Germlined + Optimización del scFv + estabilización del

disulfuro

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 5 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMHWRQAPGKCLEWVSVIYPS
 GGKTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTTVTVSSGGGG
 SGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 49)

10

>620I-X0173-G11 (620I-X0177-G01)= 620I-X0136-G05

*Germlined + Optimización del scFv + estabilización del**disulfuro*

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 15 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFNCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGKSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPS
 GGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTTVTVSSGGGG
 20 SGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 50)

Ejemplo 4: Construcción y Caracterización de anticuerpos Biespecíficos Ejemplares con Mutaciones y/o Eliminaciones de terminal C

Los anticuerpos biespecíficos (620I-X0177-A01, 620I-X0177-C01, 620I-X0177-E01, 620I-X0177-G01) ejemplares se evaluaron para la producción y fabricación. Las muestras de los anticuerpos biespecíficos se incubaron a una temperatura ambiente durante 48 horas a varios pH antes del análisis. Después, las muestras se separaron en un gel de proteína SDS-PAGE, como se muestra, por ejemplo, para el anticuerpo biespecífico 620I-X0177-A01 en la FIGURA 15, o analizado por cromatografía de exclusión de tamaño (FIGURAS 16A-16C). Un aumento dependiente de pH de las bandas 30 kDa y 50 kDa y una disminución de las bandas 80 kDa se observaron bajo condiciones reducidas (FIGURA 15, filas 2-6). Las apariencias de estas bandas inesperadas que indican que los anticuerpos biespecíficos experimentaron escisión proteolítica inesperada. La apariencia de las mismas especies 30 kDa bajo condiciones no reductoras indicaron que la especie escindida era monomérica (FIGURA 15, filas 6-8). Mediante el análisis SEC, los picos se observaron a 15.7-16.1 minutos que representan los anticuerpos biespecíficos correctamente formados, a 17 minutos que representa DX-2930, y a 22 minutos que representa el anticuerpo de una sola cadena escindido

(FIGURAS 16A-16C).

Los anticuerpos biespecíficos ejemplares se diseñaron para eliminar el residuo de lisina de terminal C de cadena pesada de IgG1 o mutar la lisina a un residuo de glicina.

5 A continuación, se proporcionan las secuencias de aminoácidos de los primeros polipéptidos de los anticuerpos biespecíficos que incluyen una eliminación del residuo de lisina de terminal C o una mutación de la lisina de terminal C a un residuo de glicina de la cadena pesada del primer
10 anticuerpo. Estos primeros polipéptidos se pueden emparejar con la cadena ligera de DX-2930.

>620I-X0179-A09 (620I-X0177-A01 con eliminación de lisina de terminal C de IgG)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
15 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDRK
VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
NHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKLEWVSSIWPSG
20 GHTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTTVTVSSGGGGGS
GGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSN
RASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 141)

>620I-X0179-C01 (620I-X0177-A01 con mutación de lisina de terminal C de IgG a Glicina)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN

NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDRK
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 5 NHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIWPS
 GGHTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 142)

>620I-X0179-E05 (620I-X0177-C01 con eliminación de lisina de terminal C de IgG)

10 EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDRK
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 15 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSG
 GKTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGG
 GGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 RASGV PDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 143)

>620I-X0179-G05 (620I-X0177-C01 con mutación de lisina de terminal C de IgG a Glicina)

20 EVQLLES GGGGLVQPGGSLRLS CAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDRK
 VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK

NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPS
 GGKTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 144)

5 **>620I-X0180-A05 (620I-X0177-G01 con eliminación de lisina de terminal C de IgG)**

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 10 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSG
 GLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGG
 GGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 15 RASGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 145)

15 **>620I-X0180-C11 (620I-X0177-G01 con mutación de lisina de terminal C de IgG a Glicina)**

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 20 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPS
 GGLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG

NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 146)

>620I-X0180-E07 (620I-X0177-E01 con eliminación de lisina de terminal C de IgG)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 5 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMHWVRQAPGKCLEWVSVIYPSG
 10 GKTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TVTVSSGGGGG
 GGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSN
 RASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 147)

>620I-X0180-G03 (620I-X0177-E01 con mutación de lisina de terminal C de IgG a Glicina)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 15 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFSCSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMHWVRQAPGKCLEWVSVIYPS
 20 GGKTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSLLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEIKR (SEQ ID NO: 148)

Cada uno de los anticuerpos biespecíficos ejemplares que incluyen una eliminación del residuo de lisina de terminal C

o una mutación de la lisina de terminal C a un residuo de glicina de la cadena pesada del primer anticuerpo se evaluó al separar los anticuerpos biespecíficos en un gel SDS-PAGE a $t=0$ (FIGURAS 17A-17B). Las muestras de cada uno de los anticuerpos biespecíficos ejemplares también se concentraron usando un filtro de rotación de corte de peso molecular Amicon de 10 kDa a aproximadamente 10 mg/mL en 50 mM Hepes, pH 7.5 y se incubaron a temperatura ambiente durante 48 horas. Después, las muestras se evaluaron por gel SDS-PAGE (FIGURA 18). En cada caso, la eliminación o mutación de la lisina de terminal c redujo o eliminó escisión del scFv del anticuerpo biespecífico.

Las muestras del biespecífico también se evaluaron mediante cromatografía analítica de exclusión de tamaño, demostrando que la eliminación o mutación de la lisina de terminal C redujo la escisión de los anticuerpos biespecíficos (FIGURAS 19A-20H). La escisión de los anticuerpos biespecíficos también se evaluó al incubar los anticuerpos con EndoLysC a 37°C durante 1 hora después de la separación en un gel SDS-PAGE (FIGURA 21). Las bandas de proteína a 50 kDa corresponden a la porción Fab de DX-2930, y las bandas a 100 kDa corresponden a un homodímero de Fc-scFv, indicando además que la eliminación o mutación de la lisina de terminal C de cadena pesada C-terminal redujo la escisión

de los anticuerpos biespecíficos.

Los anticuerpos biespecíficos ejemplares que incluyen una eliminación o mutación de la lisina de terminal C también se caracterizaron para la habilidad de inhibir pKal, FXIIa, y plasma activado en comparación a DX-2930 y DX-4012 de control (Tabla 1, FIGURA 22-24). Cada uno de los anticuerpos biespecíficos ejemplares se encontró que son funcionalmente equivalentes al anticuerpo biespecífico principal (el anticuerpo biespecífico que no comprende la eliminación o mutación de la lisina de terminal C de cadena pesada de IgG1). La mutación puede reducir la heterogeneidad de carga del anticuerpo biespecífico.

Tabla 6: Resumen de los anticuerpos biespecíficos usados en los ensayos bioquímicos, así como las IgG de control DX-2930 y DX-4012. Los ensayos se llevaron a cabo para medir la inhibición de pKal, inhibición de FXIIa e inhibición de plasma activado.

R-nombre	X-nombre (o DX-)	Biespecífico principal	Alteración de lisina de terminal C de IgG	scFv FXII	Inhibición de pKal Ki.app (pM)	Inhibición de FXIIa Ki.app (pM)	Inhibición del plasma activado IC50/Ki,app (nM)
620I- RQ052- AQ1	620I- X0179-A09	620I- X0177-A01	Eliminación de Lisina	559C-M0192-H11 GL/GO/Disulfuro H4LscFv	225	90	7.6 (Ki)
620I- R0052- CQ1	620I- X0179-C01	620I- X0177-A01	Lisina- Glicina	559C-M0192-H11 GL/GO/Disulfuro H4LscFv	243	108	7.8 (Ki)
620I- R0052- EQ1	620I- X0179-E05	620I- XQ177-C01	Eliminación de Lisina	559C-M0192-F06 GL/GO/Disulfuro H4L	203	99	7.4 (Ki)

620I- R0052- G01	620I- X0179-G05	620I- XQ177-C01	Lisina- Glicina	559C-M0192-F06 GL/GO/Disulfuro H4L	226	52	8.1 (Ki)
620I- R0052- EQ3	620I- X01S0-E07	620I- XQ177-EQ1	Eliminación de Lisina	559C-M0191-E09 GL/GO/Disulfuro H4LscFv	243	92	3.0 (Ki)
620I- RQG52- G03	620I- X0180-G03	620I- XQ177-EQ1	Lisina- Glicina	559C-M0191-E09 GL/GO/Disulfuro H4LscFv	208	71	2.8 (Ki)
620I- R0052- A03	620I- X0130-A05	62QI- X0177-GG1	Eliminación de Lisina	559C-M0192-A01 GL/GO/Disulfuro H4LscFv	254	116	7.3 (Ki)
620I- R0052- C03	620I- X01S0-C11	62QI- X0177-GG1	Lisina- Glicina	559C-M0192-A01 GL/GO/Disulfuro H4LscFv	232	140	9.2 (Ki)
	DX-2930				127,131,151	n/a	90, 68,74, 74,66 (IC50)
	DX-4012				n/a	8, 2,9	279, 291 (IC50)

De manera alternativa o además, se puede eliminar el motivo Lisina-Arginina (KR) en la terminal C del scFvs anti-FXIIa señalado anteriormente. A continuación, se proporciona la secuencia de aminoácidos del anticuerpo biespecífico ejemplar que incluye una eliminación del residuo de lisina de terminal C o una mutación de la lisina de terminal C a un residuo de glicina de la cadena pesada del primer anticuerpo y una eliminación de los residuos de lisina-arginina de terminal C del scFv.

>620I-X0186-C05 (620I-X0177-A01 con eliminación de lisina de terminal C de IgG y eliminación de KR de terminal C)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR

VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIWPSG
 GHTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGGS
 5 GGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSN
 RASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 151)

*>620I-X0185-C01 (620I-X0177-A01 con mutación de lisina de
 terminal C de IgG a Glicina y eliminación de KR de terminal
 C)*

10 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 15 NHYTQKSLSLSPGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSQYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIWPS
 GGHTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGGS
 SGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 152)

*>620I-X0186-E05 (620I-X0177-C01 con eliminación de lisina de
 terminal C de IgG y eliminación de KR de terminal C)*

20 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH

NHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLESGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSG
 GKTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGGG
 GGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSN
 RASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 153)

*>620I-X0185-E01 (620I-X0177-C01 con mutación de lisina de
 terminal C de IgG a Glicina y eliminación de KR de terminal
 C)*

EVQLLESGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLESGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPS
 GGKTSYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGG
 SGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 154)

*>620I-X0186-A05 (620I-X0177-G01 con eliminación de lisina de
 terminal C de IgG y eliminación de KR de terminal C)*

EVQLLESGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISR
 DSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVKDKR
 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNV FSCVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLESGGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPSG
 GLTKYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGT TTVTVSSGGGGG
 GGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTGPGEPAISCRSSQSL LHSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLGSN

RASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 155)

>620I-X0185-A03 (620I-X0177-G01 con mutación de lisina de terminal C de IgG a Glicina y eliminación de KR de terminal C)

5 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
10 NHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYVMHWVRQAPGKCLEWVSSIYPS
GGLTKYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTITVTVSSGGGG
SGGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 156)

>620I-X0186-G07 (620I-X0177-E01 con eliminación de lisina de terminal C de IgG y eliminación de KR de terminal C)

15 EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
VEPKSCDKHTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
20 NHYTQKSLSLSPGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMHWVRQAPGKCLEWVSVIYPSG
GKTRYADSVKGRFTISRDNKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTITVTVSSGGGGG
GGGGSGGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
NRASGVDPDRFSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 157)

>620I-X0185-G01 (620I-X0177-E01 con mutación de lisina de

terminal C de IgG a Glicina y eliminación de KR de terminal

C)

EVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSHYIMMWVRQAPGKGLEWVSGIYSSGGITVYADSVKGRFTISRDN
 NSKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCAYRRIGVPRRDEFDIWGQGTMTVSSASTKGPSVFPLAPSSKSTSGGTAA
 LGCLVKDYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSGLYSLSSVVTVPSSSLGTQTYICNVNHKPSNTKVDKR
 5 VEPKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMISRTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNA
 KTKPREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNKALPAPIEKTISKAKGQPREPQVYTLPPSREEMTK
 NQVSLTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTTPPVLDSDGSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCFSVMHEALH
 NHYTQKSLSLSPGGSGGGSEVQLLESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFTFSWYSMHWRQAPGKCLEWVSVIYPS
 GGKTRYADSVKGRFTISRDN SKNTLYLQMNSLRAEDTAVYYCARQRYRGPKYYYYMDVWGQGTTVTVSSGGGG
 10 SGGGGSGGGSGGGGSDIVMTQSPLSLPVTPGEPASISCRSSQSLHLSNGYNYLDWYLQKPGQSPQLLIYLG
 NRASGVPDFRSGSGSGTDFTLKISRVEAEDVGVYYCMQALQTPWTFGCGTKVEI (SEQ ID NO: 158)

Los polipéptidos anteriormente enlistados se pueden emparejar con la cadena ligera de DX-2930 para formar anticuerpos biespecíficos, que también están dentro del alcance de la presente invención.

15

Otras Modalidades

Todas las características descritas en esta especificación se pueden combinar en cualquier combinación. Cada característica descrita en esta especificación se puede remplazar por una característica alternativa que sirve lo mismo, equivalente o
 20 propósito similar. De esta manera, a menos que se exprese lo contrario, cada característica descrita es solo un ejemplo de una serie genérica de características equivalentes o similares.

De la descripción anterior, una persona experta en la

técnica puede determinar fácilmente las características
esenciales de la presente invención, y sin apartarse del
espíritu y alcance de la misma, puede hacer varios cambios y
modificaciones de la invención para adaptarlos a varios usos
5 y condiciones. De esta manera, otras modalidades también se
encuentran dentro de las reivindicaciones.

10

15

20